



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

WASHINGTON LUIZ SILVA GONÇALVES

**"EFEITOS CARDIOMETABÓLICOS DA MOBILIZAÇÃO DE
GORDURA SUBCUTÂNEA INDUZIDA POR ULTRA-SOM
TERAPÊUTICO: EVIDÊNCIAS DE UM MODELO DE SÍNDROME
METABÓLICA EM RATAS"**

TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

VITÓRIA - ES - 2008



WASHINGTON LUIZ SILVA GONÇALVES

**EFEITOS CARDIOMETABÓLICOS DA MOBILIZAÇÃO DE GORDURA
SUBCUTÂNEA INDUZIDA POR ULTRA-SOM TERAPÊUTICO: EVIDÊNCIAS DE
UM MODELO DE SÍNDROME METABÓLICA EM RATAS**

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Fisiológicas, Departamento
de Ciências fisiológicas do Centro de
Ciências da Saúde da Universidade
Federal do Espírito Santo como
parte dos requisitos para a obtenção
do Título de Doutor.

Área de Concentração

Fisiologia Cardiovascular e Endócrina

Orientador: Prof^a. Dr^a. Margareth Ribeiro Moysés

Co-orientador: Prof^a. Dr^a. Nazaré Souza Bissoli

VITÓRIA - ES - 2008



FICHA CATALOGRÁFICA

GONÇALVES; Washington Luiz Silva.

"EFEITOS CARDIOMETABÓLICOS DA MOBILIZAÇÃO DE GORDURA SUBCUTÂNEA INDUZIDA POR ULTRA-SOM TERAPÊUTICO: Evidências de um Modelo Síndrome Metabólica em Ratas" / Washington Luiz Silva Gonçalves - pp. 75 - Vitória - 2008.

Tese de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Departamento de Ciências Fisiológicas - Centro de Ciências da Saúde - Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

Àrea de Concentração: **Fisiologia Cardiovascular e Endócrina.**

Orientador: Prof^a. Dra. Margareth Ribeiro Moysés.

Co-orientador: Prof^a Dra. Nzare Souza Bissoli.

Palavras-Chave: 1. Ultra-som 2. Tecido adiposo branco 3. Dislipidemias 4. Resistência insulínica 5. Metabolismo energético 6. Disfunção coronariana.



**EFEITOS CARDIOMETABÓLICOS DA MOBILIZAÇÃO DE GORDURA
SUBCUTÂNEA INDUZIDA POR ULTRA-SOM TERAPÊUTICO: EVIDÊNCIAS DE
UM MODELO DE SÍNDROME METABÓLICA EM RATAS**

por

WASHINGTON LUIZ SILVA GONÇALVES

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Departamento de Ciências Fisiológicas, Centro de Ciências de Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo e aprovada em 31/ 10 / 2008, pela Comissão Examinadora:

Prof^a. Dra. Maria José Campagnole dos Santos – Membro Externo - (UFMG).

Prof^a. Dra. Maria Tereza Nunes - Membro Externo - (USP).

Prof. Dr. José Geraldo Mill - Membro Interno - (UFES).

Prof^a. Dra. Nazaré Souza Bissoli - Membro Interno (UFES).

Prof. Dra. Margareth Ribeiro Moysés – Orientadora (UFES).

Coordenador da PPGCF/UFES:

Prof. Dr. Luiz Carlos Schenberg – (UFES).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
Vitória, 31 de Outubro de 2008.



DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho as Grandes Mulheres da minha vida, pois sem **ELAS** nada disto seria possível. As **Marias** "*Pela doação de vida*"; as **Ritas** "*Pelos exemplos de dignidade*"; as **Sônias** e **Patrícias** "*Por mostrarem o caminho certo*" as **Margaretes, Mercedes, Gláucias, Glórias e Nazarés** "*Pelas portas sempre abertas*";

E finalmente ao **FEMININO** que dentre inúmeras qualidades, têm dom de gerar a **VIDA**.

Os meus mais profundos e sinceros votos de saúde, felicidades e afeto!

"... a mais inelutável de todas as influências que atuam sobre a formação da natureza humana, em todos os seus elementos, é a mulher. Mãe, amante, esposa, filha, irmã, mestra, amiga ela é a explicação do indivíduo e da sociedade."

Rui Barbosa.



**Aos grandes pensadores e orientadores,
com que tive o prazer de aprender e o
orgulho de partilhar conhecimentos:**

Prof. PhD. Antônio de Melo Cabral

Prof. PhD. Elizardo Coral Vasquez

Prof. PhD. José Geraldo Mill

Prof. PhD. Hélder Mauad

Prof. PhD. Luiz Carlos Schemberg

“Se não posso realizar grandes coisas, posso pelo menos fazer pequenas coisas
com grandeza”.

(Clarck)



AGRADECIMENTOS

Só quando se consegue chegar ao final de uma tarefa proposta, é que conseguimos avaliar ou sentir o peso das contribuições dadas por algumas pessoas, que ao ajudarem na realização desta tarefa, mesmo supondo que foram simples contribuições ou até mesmo obrigações; não têm se quer a consciência da grandeza de suas atitudes para quem as recebeu! Ofereço, o mais profundo e terno agradecimento á todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram para a elaboração, construção e realização deste trabalho.

"A grandeza não consiste em receber honras, mas em merecê-las". (**Aristóteles**).

Particularmente, agradeço a DEUS, por ter me inspirado na curiosidade de querer saber os porquês, e sempre guiar-me na busca das respostas.

"É muito mais fácil reconhecer o erro do que encontrar a verdade. O erro está na superfície e, por isso, é fácil erradicá-lo. A verdade repousa no fundo e não é qualquer um que consegue chegar até ela". (**Goethe**).

Aos meus Pais e Irmãos por terem me incentivado, apoiado e ainda por ajudarem a suportar os percalços desta busca.

"Ama-me quando eu menos o merecer, pois será nesta altura que mais necessitarei". (**Dr. Jeckyll**).

Aos exemplos de cientistas e meus professores, Antônio Melo Cabral, José Geraldo Mill, Elizardo Coral Vasquez, Hélder Mauad, Henrique Futuro Neto, José Gulilherme P. Pires, Dalton Valentin Vassalo, Fausto Pereira, Luiz Carlos Schemberg e Carlos Alberto Redins, cujo um breve diálogo bastava para reavivar a inspiração e suportar os fracassos desta busca.

"Aprendi silêncio com os falantes, tolerância com os intolerantes, e gentileza com os



rudes; ainda, estranho, sou ingrato a esses professores..." (**Kalil Gibran**).

Às Prof^a Dr^{as} Ivanita Stefanon, Silvana Meirelles, Sônia Gouveia, Agatha Gava, Alessandra Padilha, Ester Myoky, Suely Magalhães, Maria Aparecida Cicilini, Letícia Rangel, Maria Teresa Martins e Cláudia Leite que muitas vezes foram conselheiras, amigas e grandes ouvintes, e nem por um momento, deixaram de acreditar na seriedade e necessidade desta busca.

"Um amigo é uma pessoa com a qual se pode pensar em voz alta". (**Ralf Waldo Emersom**).

Especialmente as Prof^{as}. Margareth Moysés, Gláucia Abreu e Nazaré Bissoli cuja admiração e o afeto vêm de um lugar onde a "Fisiologia e a Farmacologia" não conseguem explicar. "Meninas super-poderosas, sei que na minha busca foram muitos os empréstimos e bem poucos os pagamentos, por tudo isso e muito mais, agradeço de coração."

"A pura amizade é haver uma alma em dois corpos". (**Aristóteles**).

Aos grandes amigos, que para mim são irmãos... João Paulo, Helena Gomes, Jones Graceli, Patrick Endlich, Walquíria Garcia, Ágata Gava, Pablo Lúcio, Breno Nogueira, Diego Pedrosa, Alessandra Padilha, Giulia Wiggers, Franck Peçanha, Élio Waichert, Karina Guibert, Thiago Mello, Marcelo Baldo, Marcelo Benevides, Cíntia Santuzzi, Mariana Borgo, Lázaro Ferreira, Fagna, Rogério, e as minhas ICs especiais MA-MA-MA (Mariela, Mariana e Marina) "não necessariamente nesta ordem! E se esqueci alguém da "patotinha" perdoe-me! (Ah! Ah! Ah!)". Por suportarem alguns dos piores momentos desta busca, pela dignidade com que passaram por eles, e ainda pela criatividade e inteligência de se divertirem com os mesmos.

"Há pensamentos que são orações, há momentos no qual, qualquer que seja a posição do corpo, a alma está de joelhos". (**Victor Hugo**).



Aos amigos, parceiros, companheiros, emprestadores, doadores, suportadores e outras coisas mais que "ANJOS" podem ser... Rowdley (Titi), Ricardo (Ricpicnic), Patrícia (Búu), Cláudio (Shu), Fabiano (Tt), Willian, João (John-John), Frank & Giulia, Karina (Vagi), Breno (Royal), Patrick (Estrela), Ágata (catita).

"Tudo que é bom, dura pouco. Errado, Errado! Dura o tempo suficiente, para se tornar inesquecível...". (**Anônimo**).

A Fisioterapia, ainda desconhecida, muitas vezes desacreditada, para alguns a solução e outros a alternativa. Mas, para mim a escolha de um ideal de vida e de realização dos meus desejos e sonhos.

"A maior recompensa do nosso trabalho não é o que nos pagam por ele, mas naquilo que ele nos transforma". (**John Ruskin**).

Agradeço também, aos funcionários, em especial ao Fonseca e a Maria, aos alunos, e colegas da UFES que participaram indiretamente desta busca, pois imbuído da curiosidade e obstinado por um ideal, não pude oferecer a vocês o que realmente necessitavam.

"O insucesso é apenas uma oportunidade para recomeçar de novo com mais inteligência". (**Henry Ford**).

E por fim, a todos aqueles os quais se supõe que este trabalho irá de alguma maneira auxiliar.

"Quando a gente pensa que sabe todas as respostas, vem a vida e muda todas as perguntas". (**Anônimo**).

Grato!



SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS E TABELAS.....	12
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	14
RESUMO.....	16
ABSTRACT.....	18
1. INTRODUÇÃO.....	20
1.1. Terapia ultra-sônica.....	20
1.2. Adiposidade e síndrome metabólica.....	24
2. OBJETIVOS.....	31
2.1. Objetivo geral.....	31
2.2. Objetivos específicos.....	31
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
3.1. Animais e grupos experimentais.....	32
3.2. Composição corporal e controle metabólico.....	32
3.3. Terapia ultra-sônica de baixa intensidade (3-MHz).....	33
3.4. Cateterização arterial.....	34
3.5. Medidas direta da pressão arterial média e frequência cardíaca.....	35
3.6. Bioquímica plasmática e HOMA.....	35
3.7. Estudos em corações isolados.....	36
3.8. Lipectomia bilateral.....	37
3.9. Análise estatística.....	37
4. RESULTADOS.....	38
4.1. Avaliação da composição corporal e controle metabólico.....	38



4.2. Determinação dos depósitos de gordura corporal.....	42
4.3. Perfil bioquímico plasmático e resposta Inflamatória sistêmica.....	43
4.4. Hemodinâmica cardiovascular e função coronariana.....	45
5. DISCUSSÃO.....	47
6. CONCLUSÕES.....	58
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
8. ANEXOS.....	69



LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura-1 – Localização e diferenciação do tecido adiposo marrom (multilocular) e tecido adiposo branco (unilocular), no homem.....	25
Figura-2 – Representação esquemática do tecido adiposo como um órgão endócrino.....	27
Figura-3 – Efeitos da lipólise do tecido adiposo branco (TAB) subcutâneo pela terapia ultra-sônica de baixa intensidade (TUSBI), no peso corporal, no comprimento naso-anal e na composição.....	38
Figura-4 – Efeitos da lipólise do TAB subcutâneo pela TUSBI na composição corporal e na temperatura.....	39
Figura-5 – Efeitos da lipólise do TAB subcutâneo pela TUSBI, no metabolismo energético.....	41
Figura-6 – Avaliação dos depósitos de gordura abdominal e inguinal bilateral, após lipólise do TAB subcutâneo pela TUSBI.....	42
Figura-7 – Avaliação dos parâmetros hemodinâmicos cardiovasculares, após lipólise do TAB subcutâneo pela TUSBI.....	45
Figura-8 – Curva dose-resposta de adenosina e determinação da pressão de perfusão coronariana basal (PPC), após lipólise do TAB subcutâneo pela TUSBI.....	46
Figura-9 – Esquema das vias de sinalização da leptina e outras citocinas pró-inflamatórias com ações sobre o apetite e metabolismo energético.....	48
Figura-10 – Esquema de possíveis vias para conexão entre elevação plasmática de AGNEs/NEFAs com aumento da pressão sanguínea.....	55



TABELA-1: Valores do perfil glico-lipoprotéico e enzimático plasmático em função do tratamento com TUSBI.....	43
TABELA-2: Valores da resposta inflamatória sistêmica (leucograma), em função do tratamento com TUSBI.....	44



LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

- ACTH** – Hormônio adenocorticotrófico.
- Acetil-CoA** – Acetil coenzima-A
- AGL** – Ácidos graxos livres.
- AGRP** – Peptídeo relacionado ao agouti.
- AMPc** – Monofosfato de adenosina cíclico.
- Ang** – Angiotensinogênio.
- Ang I** – Angiotensina 1.
- Ang II** – Angiotensina 2.
- AT-1** – Receptor de angiotensina tipo-1.
- AT-2** – Receptor de angiotensina tipo-2.
- ASP** – Proteína estimulante de ascilação.
- CART** – Peptídeo derivado da anfetamina e cocaína.
- CREB** – Proteína ligadora ao elemento responsivo ao AMPc.
- CRH** – Hormônio de liberação da corticotrofina.
- CT** – Colesterol total.
- DM2** – Diabetes mellitus tipo-II.
- DVC** – Doença cardiovascular.
- ECA** – Enzima conversora de angiotensina.
- ERO** – Espécie reativa de oxigênio.
- FAS** – Ácido graxo síntetase.
- FSH** – Hormônio folículo estimulante.
- GLUT-4** – Isoforma-4 do transportador de glicose.
- GH** – Hormônio do crescimento.
- GnRH** – Hormônio liberador de gonadotrofina.
- Hbc1a** – hemoglobina glicada.
- HDL** – Lipoproteína de alta densidade.
- HOMA-IR** – Modelo de avaliação da homeostase.
- Hz** – Hertz
- IGF-1** – Fator de crescimento insulina-simile.
- IL-1** – Interleucina-1.
- IL-6** – Interleucina 6.



IL-10 – Interleucina 10.

IRS-1 – Substrato-1 do receptor de insulina.

KHz – Kiloherztz

LDG – Lipodistrofia ginóide ou ginecóide.

LDL – Lipoproteína de baixa densidade.

LCD/USL – Lipoclasia dermossônica.

LHS – Lipase Hormônio sensível.

LH – Hormônio luteinizante.

LPL – Lipase Lipoprotéica.

MCP-1 – Monócitos tipo-1.

MHz – Megahetz.

PAI-1 – Inibidor de ativação do plasminogênio-1.

PCR – Proteína C reativa.

POMC – Proteína da melanocortina.

PPAR – Receptores nucleares ativados por proliferadores de peroxissomas.

SHBG - Proteínas de ligação dos hormônios sexuais.

SM – Síndrome metabólica.

SRAA – Sistema renina-angiotensina-aldosterona.

TA – Tecido adiposo.

TAB – Tecido adiposo branco.

TAM – Tecido adiposo marrom, pardo ou castanho.

TG – Triglicerídeos ou triacilgliceróis.

TNF- α - Fator de necrose tumoral alfa.

TUSBI/ LIUST – Terapia ultra-sônica de baixa intensidade.

W – Watts.

WASHOUT – Suspensão do tratamento, lavagem dos efeitos.

UCP – Proteína de desacoplamento mitocôndrial.

US – Ultra-som.

VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade.

α -MSH – Hormônio estimulante da melanocortina.

$^3\sqrt{}$ - Raiz cúbica.

Δ – Delta.



RESUMO

Recentes estudos mostram que a terapia ultra-sônica aumenta a atividade adrenérgica no tecido adiposo branco (TAB) e produz lipólise local com relevante mobilização de gordura corporal, efeito atualmente descrito como lipoclasia dermossônica LCD. O objetivo do presente estudo foi investigar se a LCD periférica pode predispor ao desenvolvimento dos componentes da síndrome metabólica em fêmeas saudáveis. Trinta ratas *Wistar* adultas (≈ 3 meses), pesando em ≈ 300 g, foram divididas em 3 grupos: 1) SHAM-estimuladas (SHAM, $n=10$), ultra-som-estimuladas (TUSBI/LCD, $n=10$), e estimuladas-supensão (WASHOUT). A irradiação ultra-sônica de 3-MHz era aplicada na região glúteo-femoral nos grupos de LIUST e WASHOUT. A intensidade média acústica temporal e espacial (ISATA) era de $5.6\text{W}/\text{cm}^2$, modalidade pulsada 2ms: 8ms por 3 minutos durante 10 dias para produzir a mobilização de gordura local. Foram avaliados parâmetros antropométricos e composição corporal, bioquímicos e hemodinâmicos, além de estudos em coração isolados. Todos os valores estão expressos como média \pm EPM. Para análise estatística foi usada a análise de variâncias (ANOVA) uma e duas vias, seguido pelo teste de *Tukey*. O nível de significância aceitável foi de $^*p<0.05$, $^{**}p<0.01$, *vs.* SHAM e $^{\#}p<0.05$, $^{\#\#}p<0.01$, *vs.* WASHOUT. No 10º dia, os valores de massa gorda (38 ± 1 , $31\pm 1^{**}$ e $44\pm 2^{*\#\#}$ %), pressão arterial média (99 ± 2 , $121\pm 2^{**}$ e $100\pm 1^{\#\#}$ mmHg), insulina (1.4 ± 0.3 , $3.3\pm 0.05^{**}$ e $3.1\pm 0.2^{**}$ $\mu\text{U}/\text{mL}$), triglicerídeos (25 ± 3 , $50\pm 2^{**}$ e $35\pm 4^{*\#\#}$ mg/dL), e glicemia plasmática (141 ± 13 , $208\pm 7^{**}$ e $108\pm 00^{\#}$ mg/dL) demonstraram alterações significativas quando comparadas as fêmeas SHAM, LIUST e WASHOUT, respectivamente. Nos grupos LIUST e



WASHOUT similarmente apresentaram diferenças na resposta inflamatória sistêmica, além de disfunção coronariana com prejuízo na vasodilatação induzida por adenosina (-14 ± 2 , $-3 \pm 2^{**}$ e $-9 \pm 2^{*#}$ mmHg). Estes resultados mostram que não somente a gordura visceral, mas também a mobilização da gordura periférica por LCD, conduz ao desenvolvimento dos componentes da síndrome metabólica com disfunção coronariana, podendo ser um modelo apropriado para estudos da síndrome metabólica em fêmeas adultas.

Palavras Chave: Ultra-som; Tecido adiposo branco; Dislipidemias; Resistência insulínica; Metabolismo energético; Disfunção coronariana; Modelo de síndrome metabólica.

ABSTRACT

Recent studies demonstrate that the ultrasound therapy increase adrenergic activity in the white adipose tissue (WAT), and produces local lipolysis with relevant fat corporal mobilization, currently effect described as ultrasound lipoclasia (USL). The aim of the present study was to investigate whether the peripheral USL can predispose to the development of metabolic syndrome components. Thirty female Wistar healthy rats (3 mo old) weighing $\approx 300\text{g}$, were divided into sham-stimulated (SHAM, $n=10$), ultrasound-stimulated (LIUST, $n=10$), and washout-stimulated (WASHOUT) groups. An ultrasonic irradiation of 3 MHz was applied at the gluteus-femoral region in LIUST and WASHOUT groups. The spatial average and temporal average intensity I_{SATA} was $5.6\text{W}/\text{cm}^2$, pulsed mode 2ms: 8ms for 3 min during 10 days to produce local fat mobilization Anthropometrical, body composition, biochemical and hemodynamic parameters, and isolated heart studies were performed. All values are expressed as mean \pm SEM. One- or two-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey test was used for statistical analysis. The significance level was set at $^*p<0.05$, $^{**}p<0.01$, *vs.* group SHAM and $^{\#}p<0.05$, $^{\#\#}p<0.01$, *vs.* LIUST group. In 10^o day, the fat mass (38 ± 1 , $31\pm 1^{**}$ and $44\pm 2^{\#\#}$ %), mean arterial pressure (99 ± 2 , $121\pm 2^{**}$ and $100\pm 1^{\#\#}$ mmHg), insulin (1.4 ± 0.3 , $3.3\pm 0.05^{**}$ and $3.1\pm 0.2^{**}$ $\mu\text{U}/\text{mL}$), triglyceride (25 ± 3 , $50\pm 2^{**}$ and $35\pm 4^{\#\#}$ mg/dL), and plasma glucose (141 ± 13 , $208\pm 7^{**}$ and $108\pm 00^{\#}$ mg/dL) were verified in SHAM, LIUST and WASHOUT animals, respectively. The groups LIUST and WASHOUT also presented changes of the plasma inflammatory response and coronary dysfunction with impairment of adenosine-induced vasodilation (-14 ± 2 , $-3\pm 2^{**}$ and $-9\pm 2^{\#}$



mmHg). These results show that not visceral only, but peripheral fat mobilization by USL leads to the development of the metabolic syndrome components with coronary dysfunction, being able to be a suitable model for studies in metabolic syndrome in adult females.

Key words: Ultrasound; White adipose tissue; Dyslipidemia; Insulin resistance; Energy metabolism; Coronary dysfunction; Metabolic syndrome model.



1. INTRODUÇÃO

1.1. Terapia Ultra-Sônica.

O ultra-som terapêutico (UST) é uma forma de energia mecânica não audível, que consiste em vibrações de alta frequência, na faixa acima de 20 KHz (kilohertz). A frequência está relacionada com o número de ondas que passam por um determinado ponto em unidade de tempo, expressa em Hz (hertz); varia, em geral, entre 1 e 3 megahertz (MHz), embora outras frequências possam ser programadas. Frequências mais elevadas tornam-se mais adequadas para o tratamento de tecidos superficiais, enquanto que, a frequência mais baixa as faz propícias para o tratamento das estruturas profundas (McDiarmid et al 1987; Kitchen et al 1990; TerHaar, 1987 e 2007).

A onda mecânica produzida pelo ultra-som (US) é a energia transmitida por vibrações de moléculas do meio em que estão se propagando, fazendo-as oscilarem, quer o meio seja sólido, líquido ou gasoso (TerHaar, 1987 e 2007). A quantidade de energia que incide em uma determinada superfície é chamada de potência, expressa em watts (W). Essa energia é dependente de algumas características do ultra-som (frequência, intensidade, amplitude, foco e uniformidade do feixe) e do tipo de tecido em que ocorre a propagação da onda (Speed, 2001). A intensidade é definida como a quantidade de energia que passa através da unidade de área na unidade de tempo, expressa em watts por centímetro ao quadrado (W/cm^2). Utiliza-se a sigla SATA para expressar a intensidade média de energia ultra-sônica, i.e. acústica. As ondas ultra-sônicas podem se propagar de dois modos: o contínuo e o pulsado. No modo contínuo não ocorre interrupção da onda ultra-sônica, de modo que há uma



deposição ininterrupta de energia nos tecidos irradiados. Já no modo pulsado, há interrupções regulares e reguláveis na liberação da energia nos tecidos irradiados. A escolha entre o modo contínuo ou pulsado depende dos efeitos biofísicos que se busca e da interação do ultra-som com o tecido em questão (TerHaar, 1987 e 2007).

É fato conhecido que o US interage com os tecidos biológicos por meio de mecanismos térmicos e não térmicos ou mecânicos, que prevalecem de acordo com o modo de propagação da onda (contínua ou pulsada). Os dois mecanismos de interação ocorrem simultaneamente, mas é possível potencializar um ou outro efeito alterando os parâmetros físicos da irradiação, como o tipo de onda utilizada, o tempo e a técnica de aplicação (Baker et al 2001; Dyson, 1982 e Dyson et al 2001).

Essa ampla utilização do US em várias áreas, principalmente na medicina, possibilitou a identificação de diferentes efeitos fisiológicos não térmicos da terapia ultra-sônica de baixa intensidade (TUSBI) (Barnett et al 2000; Guirro et al 2001; Guirro e Guirro, 2002; Li JK et al 2003; Rosenthal et al 2004; Gonçalves et al 2005; TerHaar, 2007) em inúmeros tecidos, tais como: efeitos fibrinolíticos (Rosenthal et al 2004), trombolíticos (Nedelmann et al 2000), lipolíticos (Miwa et al 2002; Gonçalves et al. 2005 e 2008), angiogênicos (Wu, 2007), enzimáticos (Araújo et al. 2003; Hardig et al 2006), oxidativos (Nedelmann et al 2002; Wu, 2007), sinérgicos em drogas vasoativas (Li JK et al 2003; Rosenthal et al 2004) entre outros (O'Brien-Jr, 2007 e Noble et al 2007). Todos estes efeitos estão diretamente relacionados com as doses (i.e. potência, frequência, tempo) usadas, assim como associados à responsividade do tecido biológico exposto, doses específicas de US implicam diretamente nas ações celulares e respostas teciduais observadas (Speed, 2001; Li JK et al 2003;



Rosenthal et al 2004; TerHaar et al 2007; Gonçalves et al 2005; 2008a e 2008b). Investigações atuais mostram que o emprego de US em doses habituais (1 e 3 MHz) na fisioterapia e no diagnóstico clínico, embora não apresentem riscos na prática, não devem ser compreendidas como ferramenta de absoluta segurança, pois bastam pequenas variações de frequência, potência, tempo (i.e. doses) e forma de aplicação para produzirem diferentes alterações locais do tecido biológico exposto (Barnett et al 2000; Guirro et al 2001; Koeke et al 2005; Kogure et al 2005; TerHaar, 2007).

Nos últimos 10 anos, na Europa e América do Norte, a terapia ultra-sônica tem sido usada no tecido adiposo subcutâneo como um tratamento das afecções da derme e/ou como indutor da lipólise, para a mobilização de gordura subcutânea. Na América do Sul, principalmente no Brasil, esta terapia tem ganhado notoriedade nos últimos 5 anos. Ultimamente, há um razoável número de procedimentos biomédicos, invasivos ou não-invasivos, que usam a energia do US visando reduzir as disfunções na massa gorda subcutânea em fêmeas, i.e. lipodistrofia ginóide (LDG), celulite, paniculopatia subcutânea ou ainda obesidade ginóide. Além disso, o US de alta frequência (3 e 5-MHz) pode ser aplicado com grande da eficácia e mínimo risco, tendo muitas indicações como no lipedema e no tratamento da LDG ou celulite (Siems et al 2005; Rawlings, 2006; Smalls et al 2006;). Esse procedimento não-invasivo é atualmente descrito como o lipoclasia ultra-sônica (USL) ou hidrolipoclasia dermossônica (LCD) e vem sendo alvo de importantes investigações científicas (Guirro e Guirro, 2002; kogure et al 2005; Gonçalves et al 2005; Siems et al. 2005; Smalls et al 2006; Rawlings, 2006).



Em recente estudo Miwa et al (2002) mostraram que a aplicação de US no TAB subcutâneo de ratos, em diferentes frequências, promove aumento da secreção local de noradrenalina pelo sistema nervoso simpático, ocasionando lipólise local e a mobilização de gordura pela liberação de AGL. Além disso, Kogure et al (2005) relataram que a estimulação por US, não somente produziu lipólise do tecido adiposo branco subcutâneo (TABsc) com liberação de AGL, como também aumentou a síntese de UCPs, tipo-2 e tipo-3 em músculo gastrocnêmio de ratos, através de um mecanismo diferente ao do exercício, o que sugeriu importante influência do ultrassom no metabolismo energético local e indicou novas potencialidades terapêuticas (Tiraby et al 2003. Esses e outros efeitos da TUSBI no metabolismo lipídico e glicêmico (energético) tecidual fomentaram diversas possibilidades de aplicações terapêuticas, além da lipodistrofia ginóide, no tratamento da obesidade. Pois, investigações em metabolismo energético e atividade física (trabalho muscular) têm demonstrado que níveis elevados de AGL regulam a expressão gênica da UCP-3 no músculo esquelético, fígado, pâncreas e outros tecidos, e que esta família de proteínas está altamente relacionada com obesidade, jejum e exercício (Tunstall et al 2002; Depieri et al 2004). No entanto, outros estudos importantes em metabolismo energético, termogênese e obesidade revelaram que grandes elevações dos AGL plasmáticos, também estão envolvidas nos estados de pré-RI, obesidade e DM2, e têm muitas implicações na patogênese dos componentes da síndrome metabólica (SM), (Wajchenberg, 2000; Bajaj et al 2002; Lewis et al 2002; Hermsdorff et al 2004; Schrauwen et al 2004; Sarafidis et al 2007; Rasouli et al 2007).



1.2. Adiposidade e síndrome metabólica

O tecido adiposo (TA) é um tipo especial de conjuntivo, onde se observa grande predominância de células adiposas que se caracterizam por armazenar gorduras neutras. Essas células podem ser encontradas isoladas ou em pequenos grupos no tecido conjuntivo comum, porém a maioria delas se agrupa no tecido adiposo espalhado pelo corpo. Como os mamíferos utilizam (consomem) energia de modo contínuo, mas se alimentam com intermitência, entende-se a importância de se manter um grande reservatório de energia, representado pelo TA. Além dessa função o TA têm outras, pois devido a sua localização sob a pele, modela a superfície corporal é o maior responsável pelas diferenças do contorno corporal no homem e na mulher. Assim como, são distintos os seus depósitos, acúmulo e o metabolismo e a secretando de diferentes hormônios masculinos e femininos. Forma também coxins absorventes de choques, principalmente na planta dos pés e na palma das mãos (Pénicaud et al 2000; Trayhurn et al 2001 e 2005; Coppack, 2001; Fonseca-Alaniz et al 2006; Costa et al 2006).

Como as gorduras são más condutoras de calor, o TA contribui para o isolamento térmico dos mamíferos, além disso, preenche espaços entre outros tecidos e auxilia a manter outros órgãos em suas posições normais (anatômicas). Os rins, por exemplo, podem sofrer deslocamentos (ptoses) em pessoas muito magras ou que reduzem a massa gorda corporal rapidamente (grande perda de peso), devido à redução da gordura perirenal (Pénicaud et al 2000; Trayhurn et al 2001; Coppack, 2001; Trayhurn et al 2005; Fonseca-Alaniz et al 2006).

Há duas variedades de tecido adiposo, que são facilmente identificável pela cor, localização, estrutura celular, vascularização, inervação e funções. Uma

variedade do TA é o comum, branco (TAB) ou unilocular, cujas células, quando completamente desenvolvida (adipócito maduro), contêm apenas uma gotícula de gordura no citoplasma. A outra variedade é o TA pardo, castanho ou marrom (TAM), formado basicamente por células que contêm numerosas gotículas lipídicas, sendo também conhecido como multi-locular, cuja principal característica é o maior número de mitocôndrias no citoplasma (Pénicaud et al 2000; Coppack 2001; Trayhurn et al 2001 e 2005; Costa et al 2006), (**Fig.1**).

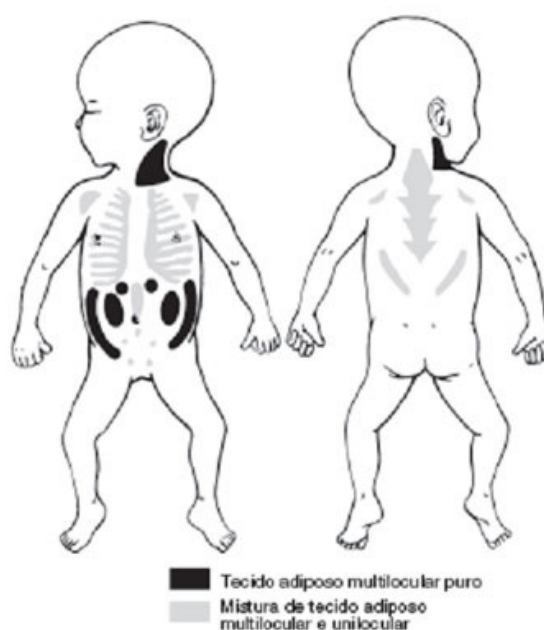


Figura-1. – Localização e diferenciação do tecido adiposo marrom (multilocular) e mistura de tecido adiposo branco (unilocular) e marrom, no homem. Gonçalves, WLS 2008.

Atualmente, o tecido adiposo branco (TAB), tanto o visceral ou omental quanto o subcutâneo, tem sido referido na literatura especializada como um órgão endócrino metabolicamente ativo e com múltiplas funções: (i) isolamento térmico, (ii) barreira física ao trauma, (iii) estocagem e modulação energética e (iiii) secreção de proteínas e peptídeos biologicamente ativos com ações endócrinas, parácrinas e autócrinas (Pénicaud et al 2000; Prinz, 2002; Fantuzzi, 2005; Trayhurn et al 2001 e



2005; Gonçalves et al 2005; Costa et al 2006). A sua capacidade de armazenamento energético é virtualmente ilimitada. Resultado do aumento das reservas de cada adipócito (favorecimento da lipogênese relativamente à lipólise) e da replicação e diferenciação de pré-adipócitos. A ausência de limite para seu acúmulo, representa vantagem adaptativa á curto prazo, e desvantagem á longo prazo, traduzida em importante disfunção endócrino-metabólica amplamente conhecida: Obesidade (Gregoire, 2005; Arner, 2005).

Como órgão secretor, i.e. metabolicamente ativo, o TAB apresenta várias particularidades, pois é atualmente discutido como importante componente do sistema endocanabinóide (Gregoire, 2005; Jesudason et al 2008; Wang et al 2008; Bellochio, 2008). Encontra-se disperso pelo organismo, em depósitos sem ligação física entre si, cuja atividade secretória é regulada por mecanismos e sinalizadores humorais e hormonais, não totalmente esclarecidos. Nesses depósitos individuais (coxins), encontram-se vários tipos celulares (células tronco e matrizes teciduais, neurônios, macrófagos, fibroblastos, pré-adipócitos e adipócitos adultos) com atividade de sínteses e secretória variável. As adipocinas, i.e., produtos segregados pelo tecido adiposo, são também produzidas por outros tecidos em várias outras situações, sendo difícil determinar precisamente a contribuição do tecido adiposo para os níveis de adipocinas circulantes. Assim como, os mecanismos moleculares de síntese, secreção "exocitose" e modulação destas substâncias, ainda não estejam totalmente esclarecidos (Fantuzzi, 2005; Charrieri et al 2003; Berg et al 2005). Pensa-se que as adipocinas desempenham um papel importante na homeostasia energética, na sensibilidade e resistência à insulina (RI), na resposta imunológica e na doença cardiovascular (DVC) (Prins, 2002; Fantuzzi, 2005; Gregoire, 2005; Xu et

al 2000). Podem por isso ser agrupadas, para comodidade de exposição e estudo, de acordo com a “principal função”, em adipocinas com função imunológica, cardiovascular, metabólica e endócrina (Prins, 2002; Ribeiro et al 2006), (**Fig. 2**).

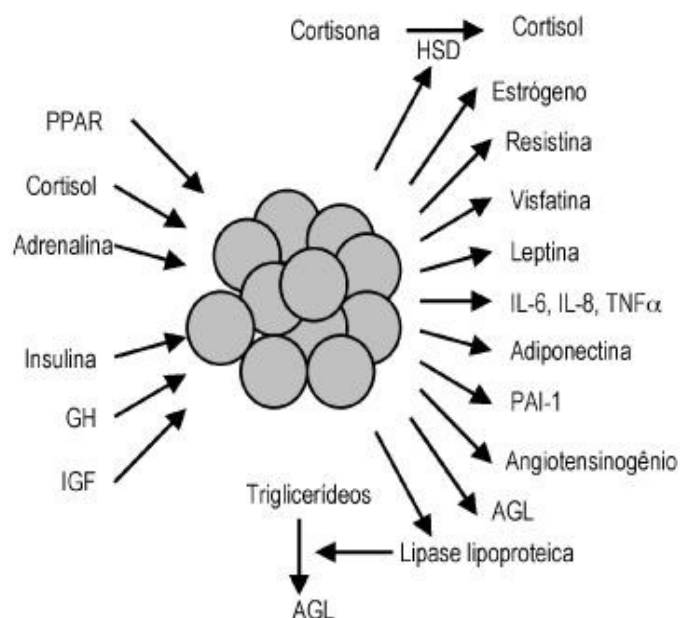


Figura-2. – Representação esquemática do tecido adiposo como um órgão endócrino e suas principais adipocinas. PPAR: *peroxisome proliferator-activated receptor*; GH: hormônio do crescimento; IGF-1: *insulin growth factor 1*; AGL: ácidos graxos livres; PAI-1: *plasminogen activator inhibitor 1*; IL: interleucina; TNF: fator de necrose tumoral; HSD: hidroxisteróide desidrogenase.

Ribeiro et al. 2006.

A **síndrome metabólica** (SM), também conhecida como síndrome X, síndrome da resistência à insulina, quarteto mortal ou síndrome plurimetabólica é caracteriza-se pela associação, num mesmo indivíduo, de dislipidemia, diabetes mellitus do tipo 2 ou intolerância à glicose, hipertensão arterial e excesso de peso ou obesidade (Zimmet et al 1999; Griffin et al 1999; Wajchenberg, 2000). Interligando estas alterações metabólicas está a resistência insulínica (hiperinsulinemia), daí também ser conhecida como síndrome de resistência à insulina. A SM é a mais comum doença metabólica da atualidade e também a maior responsável por eventos cardiovasculares (Wajchenberg, 2000; Isomaa et al 2001; Ford et al 2002; Laaksonen et al 2002; Gaede et al 2003; Pi-Sunyer, 2004). Embora



poucos dados epidemiológicos existam, a I DIRETRIZ BRASILEIRA DE DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA SÍNDROME METABÓLICA de 2004, sugerem que cerca de 30% da população mundial adulta é portadora da SM. A necessidade de uma abordagem multidisciplinar e de inúmeros medicamentos impõem ao paciente e ao sistema de saúde elevados custos, tanto com prevenção primária como com prevenção secundária e terciária. Apenas com este tipo de abordagem estes pacientes são adequadamente tratados e uma diminuição significativa da mortalidade pode ser alcançada (Alberti et al 1998; Ford et al. 2002; Pi-Sunyer, 2004; roberts et al 2006). O maior entrave para o estudo epidemiológico da SM e das suas complicações reside no fato de que a sua definição ainda não é uma unanimidade. Pelo menos dois critérios têm sido adotados, um proposto pelo NCEP-ATP III e outro pela OMS. Recentemente, todavia, um grupo finlandês validou estes critérios com algumas adaptações, o que possibilita a sua utilização como critério diagnóstico na prática clínica (Alberti et al 1998; Laaksonen et al. 2002; Gaede et al 2003; Pi-Sunyer, 2004).

Segundo a I DIRETRIZ BRASILEIRA DE DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA SÍNDROME METABÓLICA de 2004. Esta Síndrome é constituída de ≥ 3 dentre os itens abaixo:

- Hipertrigliceridemia >150 mg/dL;
- Hiperlipemia, níveis de HDL-colesterol ("bom colesterol") <40 mg/dL nos homens ou <50 mg/dL nas mulheres;
- Pressão arterial $>130/80$ mmHg;
- Hiperglicemia (glicose em jejum elevada) >100 mg/dL (5.6 mmol/L), ou diabetes tipo 2 previamente diagnosticado;



- Hiperinsulinemia e/ou glicemia de jejum ≥ 110 mg/dL.
- Obesidade (circunferência da cintura > 94 cm nos homens e > 80 cm nas mulheres).
- Estados pró-inflamatórios e pró-trombóticos (marcadores de risco cardiovascular: microalbuminúria, proteína c reativa).

Estudos epidemiológicos mostram que nenhum dos componentes da SM possui relação direta com o sistema nervoso central ou o eixo hipotálamo-hipofisário (Gaede et al 2003; Matos et al. 2003). Nos últimos anos, entretanto, investigações de diversos autores vêm comprovando que as alterações inerentes à SM relacionam-se indiretamente com diferentes eixos neuroendócrinos (principalmente corticotrófico, somatotrófico e gonadotrófico). Estas alterações hormonais neuroendócrinas muitas vezes promovem uma piora da própria SM ou podem estar associadas à predisposição para outras doenças (Matos et al. 2003; Pi-Sunyer, 2004). O eixo gonadotrófico é o responsável pela maturação sexual durante a puberdade e pela reprodução, sua função primordial. A produção dos principais hormônios sexuais (testosterona no homem e estradiol na mulher) é regulada através de dois hormônios hipofisários: o hormônio luteinizante (LH) e o folículo estimulante (FSH). Além disso, existem outras substâncias diretamente reguladas por este eixo, como os precursores androgênicos e a progesterona (Isomaa et al 2001; Ford et al 2002; Laaksonen et al 2002).

A complexidade da relação hipófise-gônada faz com que pequenas alterações, em qualquer dos hormônios que participam da sua regulação, possam promover um grande impacto no eixo gonadotrófico. Doenças que diminuam a produção de LH



e/ou FSH levam a um quadro de hipogonadismo hipogonadotrófico, enquanto que alterações primárias em gônadas (testículos ou ovários) levam a um hipogonadismo hipergonadotrófico. A SM altera o eixo gonadotrófico de diferentes maneiras em homens e mulheres. Em homens, existe uma diminuição dos níveis plasmáticos de testosterona total e livre, das proteínas de ligação dos hormônios sexuais (SHBG), uma atenuação da amplitude dos pulsos de LH e um aumento nos níveis de estradiol. Nas mulheres, por sua vez, existe um aumento dos níveis de testosterona e das gonadotrofinas, além de uma diminuição nos níveis de estradiol e da SHBG. Em ambos os sexos, a SM também apresenta uma importante relação com o desenvolvimento da puberdade (Wajchenberg, 2000; Matos et al 2003; Pi-Sunyer, 2004).

Portanto, considerando o exposto, o ultra-som terapêutico apresenta-se como uma ferramenta útil na indução de lipólise local, podendo ser usado como estimulador exógeno do metabolismo do TAB, em cada depósito de gordura corporal especificadamente para produção de processos fisiopatológicos. Na tentativa de identificar isoladamente os eventos locais e sistêmicos produzidos pelos diferentes compartimentos do tecido adiposo branco. Podendo assim, caracterizar melhor os efeitos, as vias e mecanismos sinalizadores na obesidade ginóide e na gênese da SM e seus componentes no sexo feminino.



2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Investigar os efeitos da mobilização de gordura subcutânea induzida pelo ultra-som terapêutico em ratas Wistar saudáveis, e suas implicações cardiometabólicas.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar o peso corporal, o comprimento naso-anal, a composição corporal, o índice de obesidade e o balanço energético das ratas Wistar experimentais.
- Determinar os valores do perfil glico-lipoprotéico e enzimático no plasma.
- Analisar o percentual de massa gorda, magra e água corporal e mensurar os depósitos de gordura (coxins).
- Avaliar as alterações da hemodinâmica cardiovascular e da função coronariana pela reatividade do leito vascular coronariano.
- Verificar os todos os parâmetros após a suspensão do tratamento (WASHOUT) e determinar os riscos cardiometabólicos.
- Identificar e caracterizar os componentes da síndrome metabólica em ratas.



3. MATERIAIS E MÉTODOS

A investigação foi conduzida de acordo com as normas estabelecidas pelo *Guide Care and Use of Laboratory* (1996) e o protocolo experimental aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEUA) da Universidade Federal do Espírito Santo.

3.1. Animais e grupos experimentais

Foram utilizadas 30 ratas Wistar (*Rattus Norvergicus*) obtidos no biotério do CCS-UFES com peso corporal entre 350 e 400 gramas, as quais foram aleatoriamente divididas em três grupos (n=10 cada): 1) controle-sham (SHAM), 2) tratado com terapia ultra-sônica-3MHz (TUSBI) e 3) suspensão do tratamento por 10 dias (WASHOUT). O estudo foi iniciado com o período de adaptação (5 dias) no qual cada animal executava a rotina de procedimentos e retornava a gaiola, minimizando o stress de manuseio e o efeito do isolamento. As fêmeas foram acomodadas em gaiolas individuais metabólicas, para controle metabólico e ajuste da ingestão de comida (g) e água (mL); e foram mantidas em ambiente ventilado, temperatura ($\pm 22^{\circ}\text{C}$) e iluminação artificial controladas, sendo o foto-período de 12 h (claro)/ 12 h (escuro).

3.2. Composição Corporal e Controle metabólico

Nos dias -5, 0, 5 e 10 após anestesia com halotano (3%) vaporizado em câmara de contenção, e tricotomia em região inguinal (glútea) bilateral (D ou E



aleatoriamente), numa área de 3 cm². Foram adquiridas e registradas medidas de peso e comprimento naso-anal (N-A) e realizado controle térmico retal.

A composição corporal foi avaliada em intervalos de 5 dias por meio de um equipamento de bioimpedância elétrica tetrapolar (BIA, MALTRON® BF-909, Essex, Reino Unido). A BIA avaliou a massa gorda (MG%), massa magra (MM%) e a água corporal (AC%) através do coeficiente entre a resistência e a reatância de uma corrente elétrica de baixa frequência (50 KHz) induzida de eletrodos conectados ao corpo do animal.

O controle da glicemia foi realizado por um sistema de monitoramento da glicose capilar (Prestige-IQ® - Glicomed, São Paulo, Brasil) através da punção sanguínea na cauda dos animais experimentais após todos os procedimentos diários.

O Índice de Lee (índice de obesidade em roedores) foi calculado através da equação ($\sqrt[3]{\Delta g.cm^{-1}}$): raiz cúbica ($\sqrt[3]{}$) do delta do peso corporal (gramas) dividido pelo comprimento naso-anal (centímetros) (Stephens, 1980).

3.3. Terapia ultra-sônica de baixa intensidade – (3-MHz)

Considerando certa homogeneidade com depósito de gordura em mamíferas humanas, a área a ser tratada nos animais experimentais foi definida na região inguinal direita e esquerda (glúteo-femoral), alternadamente. Para mimetizar os efeitos obtidos na clínica (lipoclasia) e reduzir os efeitos térmicos foram estabelecidos os seguintes parâmetros de irradiação ultra-sônica: I_{SATA} (*spatial average temporal average Intensity*)=3 MHz, 1 W.cm⁻², ciclo pulsado (2 ms *ON*: 8 ms *OFF*) por 3 minutos, durante 10 dias consecutivos no horário matutino. Diariamente, sob anestesia induzida (halotano-100%) os animais eram acomodados



em decúbito dorsal e as patas traseiras fixadas em abdução por imobilizador. Na área pré-estabelecida, glúteo-femoral D ou E alternadamente, aplicou-se sonogel (H_2O) e acoplou-se o transdutor (3 MHz) do ultra-som AVATAT II® (KLD - Biosystems - São Paulo, Brasil) á 1 mm da pele por suporte universal. Após início da TUSBI o transdutor foi movido lateral e sistematicamente da direita para esquerda durante toda irradiação, a fim de evitar ondas estacionárias (Gonçalves et al. 2005).

Os grupos CS e TUSBI foram submetidos aos mesmos procedimentos do estudo, entretanto, no grupo CS utilizou-se o transdutor desconectado do equipamento gerador de ultra-som que no momento estava desligado (OFF). O nível de irradiação do ultra-som usado nesse estudo foi o recomendado para ultra-som terapêutico pela W.F.U.M.B. (*World Federation Ultrasound Medicine and Biology*) e FDA (*Food and Drugs Association*), estando o transdutor calibrado e aferido em balança de precisão no Departamento de Ciências Fisiológicas da UFES (Guirro et al. 2000).

3.4. Cateterização arterial

Os cateteres foram confeccionados pela conexão de duas cânulas de polietileno PE 10 e PE 50, (Clay & Adams, USA), medindo 5 e 15 cm de comprimento respectivamente, montadas sobre um mandril de aço inoxidável e soldadas por aquecimento. Ao final do tratamento e após anestesia por éter etílico a artéria femoral foi isolada através de uma incisão na região inguinal e nela introduzida a extremidade de menor calibre da cânula (PE 10). A extremidade livre da cânula (PE 50), foi preenchida e mantida com solução salina (NaCl-0,9%) heparinizada e ocluída com o uso de um pino inoxidável. Em seguida exteriorizada



por meio de um trocáter, até próximo à região médio-cervical posterior do animal; após ser exteriorizada a cânula foi fixada por um fio de sutura, a fim de evitar que o animal pudesse arrancá-la e ou morde-la. Este procedimento permitiu que o estudo fosse realizado com o animal acordado e com o mínimo de manuseio e perturbação durante o procedimento.

3.5. Medida direta da pressão arterial média e frequência cardíaca

Os registros de pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) foram realizados através da cânula implantada na aorta abdominal (via femoral), conectada externamente através da cânula a um transdutor de pressão (Spectramed P23 XL) do sistema de aquisição de dados (Biopac Systems Inc.– Santa Bárbara Califórnia). As medidas de PAM e FC foram realizadas com os animais acordados; 06 horas após a implantação dos cateteres, através do transdutor de pressão digital e conectado ao sistema de aquisição de dados (Acq Knowledge for Windows - Biopac).

3.6. Bioquímica plasmática e HOMA

Ao final dos registros hemodinâmicos, foram retiradas amostras sangue, através da cânula implantada em artéria femoral, para posterior análise da bioquímica plasmática. O sangue foi imediatamente centrifugado á 3000 r.p.m. durante 10 min. sob refrigeração (4°C) e o plasma armazenado á -80°C. Sequencialmente foram realizadas dosagens plasmáticas de colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de muito-baixa densidade (VLDL), triglicerídeos (TG), glicose e insulina



e da enzima lipase lipoprotéica (LPL), proteína C reativa, e também foram realizados o leucograma e a dosagem de hemoglobina glicada (Hb_{1c}).

Utilizou-se o modelo de avaliação de homeostase (HOMA - homeostasis model assessment) para estimar a resistência insulínica, no qual $HOMA-IR = (\text{insulinemia de jejum [mU/L]} \times \text{glicemia de jejum [mg/dL]})$, e para determinação da capacidade funcional das células beta (βcC) em que $HOMA-\beta cC = (20 \times \text{insulinemia de jejum [mmol/L]}) / (\text{glicemia de jejum [mmol/L]} - 3,5)$. Para o cálculo utilizamos o software HOMA Calculator[®], version 2.2, Diabetes Trial Unit, University of Oxford[®].

3.7. Estudos em corações isolados

Por conseguinte, os animais foram heparinizados (100UI/Kg, i.p.), anestesiados com Hidrato de Cloral 10% (0,4ml/100g, i.p.). O tórax aberto e o coração dissecado de suas conexões e imediatamente transferido para o aparelho de perfusão através da canulação da aorta, no nível de sua curvatura, começando a seguir a perfusão retrógrada, pelo método de Langerdorff modificado. Foi utilizada para a perfusão, uma solução nutriente composta de NaCl, 120mM; CaCl₂ .2H₂O, 1,25mM; KCl, 5,4mM; MgSO₄ .7H₂O, 2,5mM; NaH₂PO₄ .H₂O, 2,0mM; NaHCO₃ , 27,0mM; Na₂SO₄ , 1,2mM; EDTA, 0,03mM e glicose 11,0mM, mantida a 37°C por um banho-maria, e continuamente aerada por mistura carbogênica (95% O₂ e 5% CO₂) na câmara de saturação de oxigênio. O fluxo coronariano mantido constante em 10 mL/min. por meio de uma bomba de rolete (Hugo Sachs, Alemanha). A pressão de perfusão coronariana (PPC) basal foi avaliada por meio de um transdutor de pressão (Statham Transducer P23Db, Incor, Brasil), conectado imediatamente próximo da cânula de perfusão aórtica, através do qual será perfundido o leito



coronariano e ligado ao sistema digital de aquisição de dados biológicos (ADM Instruments - *PowerLab*[®] *System*, Austrália). Como o fluxo foi mantido constante em 10mL/min., por meio de bomba rolete, as alterações da PPC foram diretamente relacionadas às mudanças de resistência vascular. Após 40 minutos de estabilização da preparação, a pressão de perfusão coronariana (PPC) basal foi determinada, e em seguida realizado o estudo da vasodilatação coronariana, realizada por meio de curvas de doses-respostas de adenosina. Ao término dos estudos de reatividade vascular, o coração foi perfundido com PBS (salina tampão fosfato) 10mM, pH 7,4 gelado, retirado, pesado e acondicionado em solução de PBS 10mM, pH 7,4 a 4°C.

3.8. Lipectomia Bilateral

Em seguida, através de incisão longitudinal na linha Alba, o peritônio foi acessado e realizado lipectomia bilateral (extração cirúrgica dos depósitos de gordura - coxins) para medidas da adiposidade omental: retroperitoneal (RET), perirenal (PR), parametrial (PMT); e inguinal D e E (ING).

3.9. Análise dos dados

Os dados foram inseridos e analisados em software estatístico (Graph-Pad-Prism4[®]), no qual se utilizou o teste "t" de Student e análise de variâncias (ANOVA) uma e duas vias, seguido do teste de Tukey para múltiplas comparações. Os valores estão expressos como média \pm EPM (erro padrão da média) e as diferenças foram fixadas em $p < 0.05$.

4. RESULTADOS

4.1. Valores da Composição Corporal e Controle Metabólico

Na figura 3, estão representados os valores médios de composição corporal das fêmeas experimentais, onde se verifica redução do peso corporal no grupo TUSBI quando comparados ao grupo SHAM, contudo observou-se retorno aos valores iniciais de peso no grupo WASHOUT.

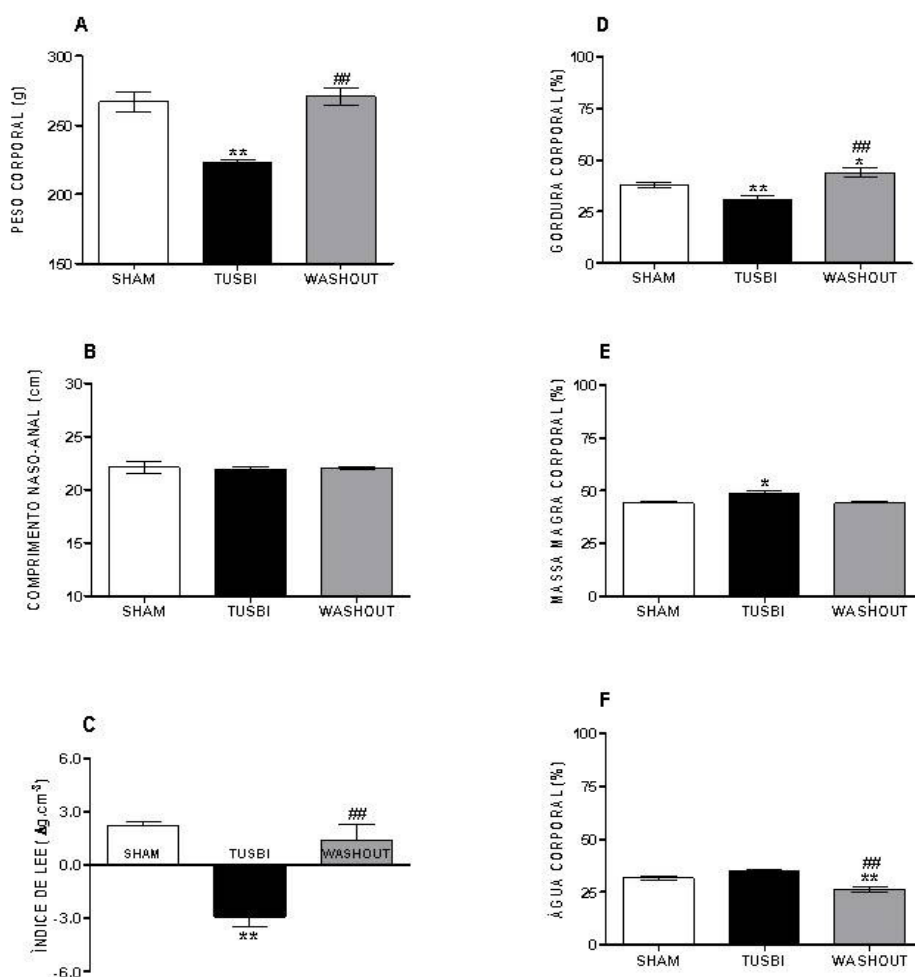


Figura-3. – Efeitos da lipoclasia dermossônica do tecido adiposo subcutâneo, no peso corporal (A), no comprimento naso-anal (B), no índice de Lee (C), na massa gorda (D), massa magra (E) e água corporal (F) de ratas Wistar saudáveis. (□) SHAM, (■) TUSBI, terapia ultra-sônica de baixa intensidade 3-MHZ, (▒) WASHOUT. Os Valores estão expressos em média \pm EPM. Análise de variâncias (ANOVA) 1 via e teste de Tukey com diferenças estabelecidas em * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. SHAM e # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs. TUSBI (n=10).

No comprimento N-A não houve alterações dos valores nos grupos experimentais. Nos valores do índice de obesidade, do percentual gordura e massa magra corporal houve significativas alterações após o tratamento com TUSBI quando comparados aos seus respectivos controles. No entanto, no grupo WASHOUT observou-se que a massa gorda corpora, não só retornou aos valores iniciais, como também apresentou elevações nos valores percentuais de gordura ($p < 0.05$) em comparação ao grupo SHAM. Com relação à massa de água corporal o grupo TUSBI, não apresentou diferenças significativas quando comparado ao SHAM, embora o grupo WASHOUT tenha demonstrado significativa perda de água corporal.

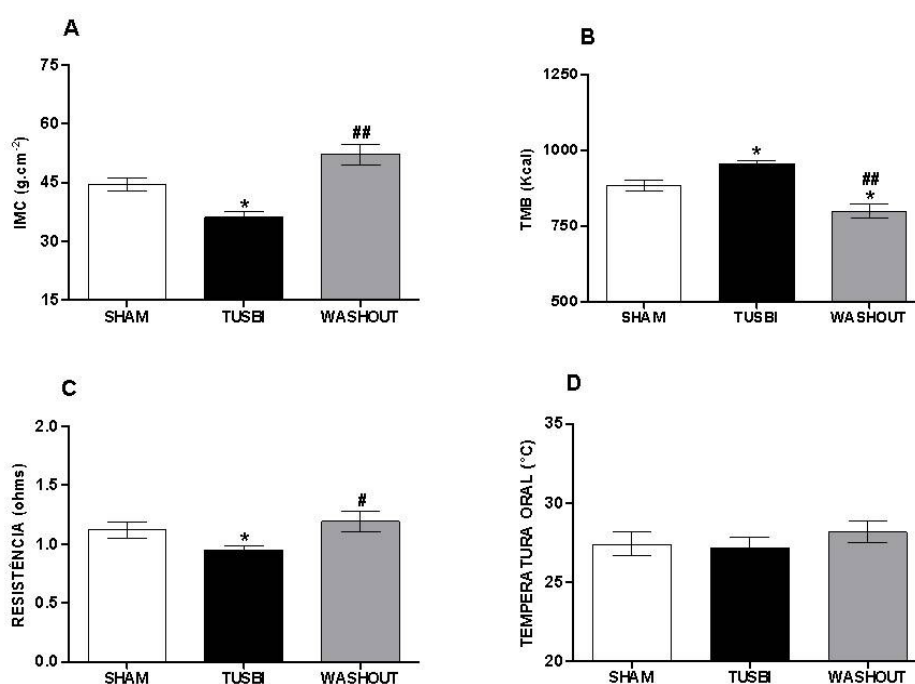


Figura-4. – Efeitos da lipoclasia dermossônica do tecido adiposo subcutâneo, no índice de massa corporal - IMC (A), na taxa metabólica basal - TMB (B), na resistência tissular (C) e na temperatura oral (D) de ratas Wistar saudáveis. (□) SHAM, (■) TUSBI, terapia ultra-sônica de baixa intensidade 3-MHZ, (▒) WASHOUT. Os Valores estão expressos em média \pm EPM. Análise de variâncias (ANOVA) 1 via e teste de Tukey com diferenças estabelecidas em * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. SHAM e # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs. TUSBI (n=10).



Na figura 4 estão demonstrados os valores do índice de massa corporal, da taxa metabólica basal e da resistência tissular, além da temperatura oral nas ratas experimentais.

Com exceção da temperatura, verificou-se que os demais parâmetros avaliados apresentaram significativas alterações no grupo TUSBI, que após interrupção do tratamento retornaram os níveis do grupo SHAM, no entanto, a taxa metabólica do grupo WASHOUT foi significativamente reduzida em relação aos valores basais.

O controle metabólico das fêmeas experimentais foi realizado durante todos os dias de estudo e registrados de 5 em 5 dias, conforme apresentado na figura 5. No grupo TUSBI, verificou-se que houve redução ($p < 0.05$) da ingestão de comida a partir do 5º dia, a qual se manteve diminuída até o final do tratamento, em comparação ao grupo SHAM. No entanto, observou-se que o grupo WASHOUT demonstrou um padrão inverso, i.e. após suspensão do tratamento com LCD, as ratas apresentaram aumento da ingestão de comida a partir do 10º dia.

Na diurese, as fêmeas do grupo TUSBI não apresentaram diferenças quando comparadas ao SHAM, contudo o grupo WASHOUT mostrou uma importante poliúria, embora tenha sido observada uma retenção de Na^+ no grupo TUSBI, retornando aos níveis basais após suspensão do tratamento com LCD.

Na ingestão de água e na excreção de K^+ , não houve alterações significativas nos grupos de ratas experimentais. Com relação à glicemia, observamos um aumento expressivo dos valores basais durante o tratamento com LCD, que reduziu significativamente após suspensão da LCD.

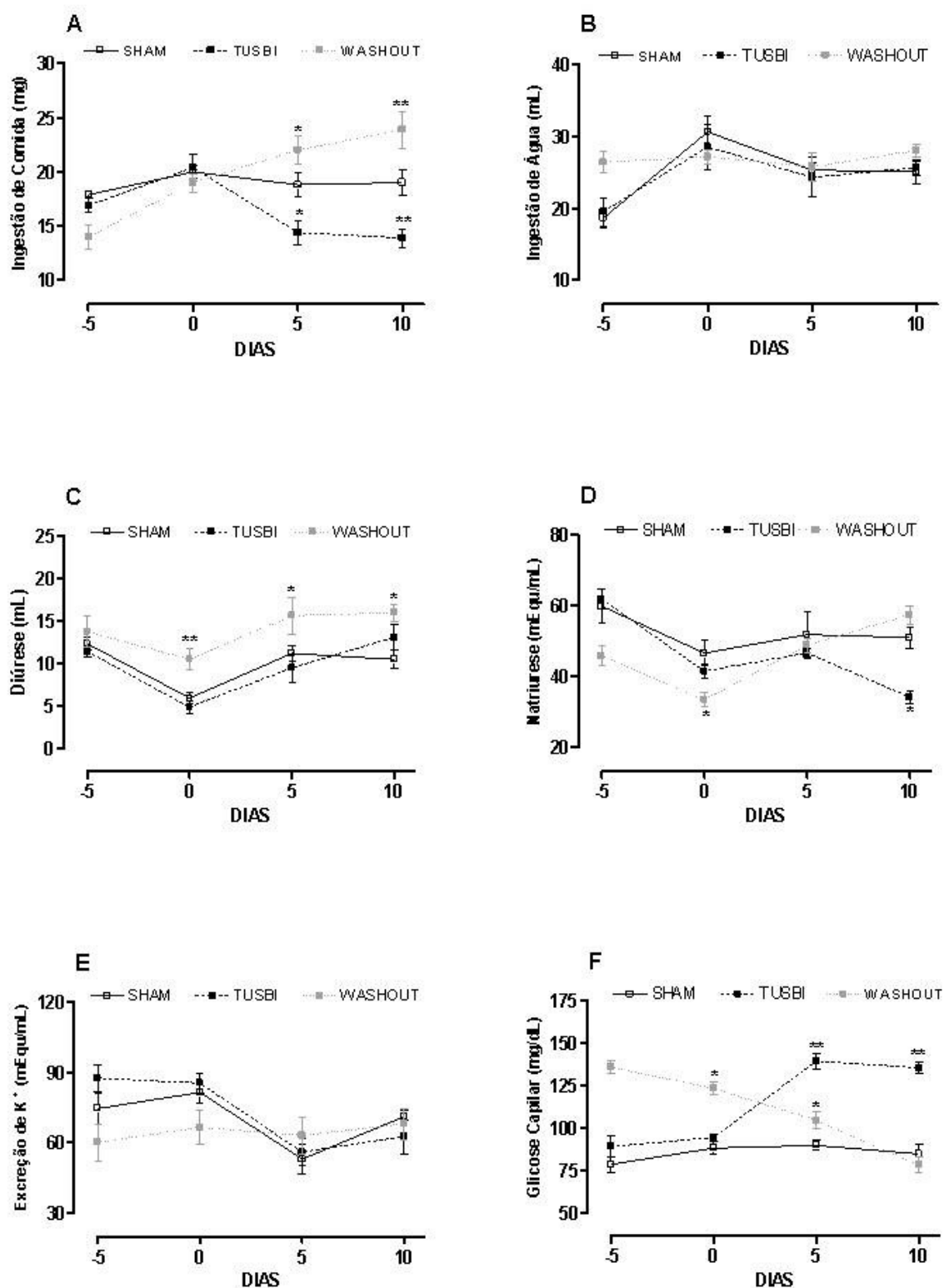


Figura-5. – Efeitos da lipoclastia dermosônica, na ingestão de comida (A) e água (B), na diurese (C), na excreção de Na⁺ (D) e K⁺ (E) e na glicemia (F) de ratos Wistar saudáveis. (□) SHAM, (■) TUSBI, terapia ultra-sônica de baixa intensidade 3-MHZ, (○) WASHOUT. Os Valores estão expressos em média ± EPM. Análise de variâncias (ANOVA) 1 e duas vias e teste de Tukey com diferenças estabelecidas em * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. SHAM e # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs. TUSBI (n=10).

4.2. Determinação dos Depósitos de Gordura Corporal.

Na figura 6 apresentamos os valores da lipectomia, onde se verificou significativa redução no depósito retroperitoneal, inguinal no grupo TUSBI quando comparados com o SHAM. No grupo WASHOUT, observa-se que as reduções na gordura retroperitoneal e inguinal bilateral foram mantidas, embora, interessante tenha ocorrido redução da gordura parametrial, após a suspensão do tratamento com LCD. Na gordura perirenal não foram determinadas diferenças entre os grupos experimentais.

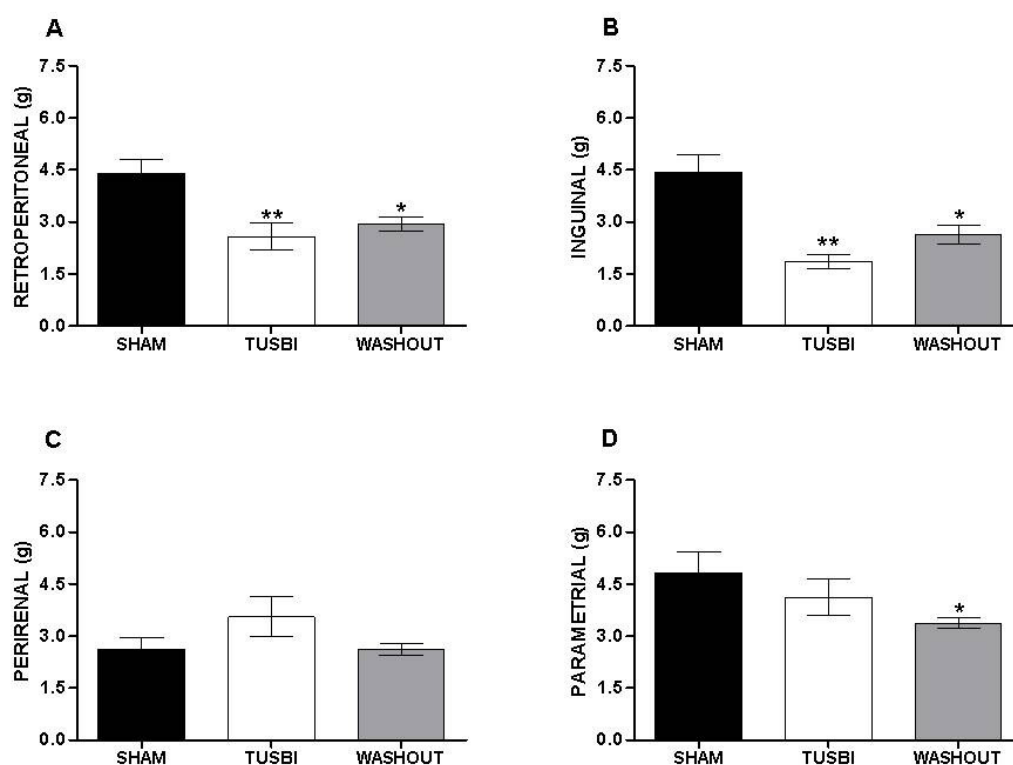


Figura-6. – Avaliação dos depósitos de gordura (coxins) retroperitoneal (A), perirenal (B), parametrial (C) e inguinal bilateral (D), após lipoclasia dermossônica de tecido adiposo subcutâneo de ratas Wistar saudáveis. (□) SHAM, (■) TUSBI, terapia ultra-sônica de baixa intensidade 3-MHZ, (■) WASHOUT. Os Valores estão expressos em média \pm EPM. Análise de variâncias (ANOVA) 1 via e teste de Tukey com diferenças estabelecidas em * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. SHAM e # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs. TUSBI (n=10).

4.3. Perfil Bioquímico e da Resposta Inflamatória sistêmica.

Quanto ao perfil glico-lipoprotéico e enzimático das fêmeas experimentais, houve importantes alterações em quase todos os parâmetros bioquímicos avaliados, assim como elevações significativas do índice HOMA-IR.

TABELA-1: Valores do perfil glico-lipoprotéico e enzimático plasmático de ratas Wistar saudáveis, em função do tratamento com LDC.

<i>Parâmetros</i>	SHAM	TUSBI	WASHOUT
Colesterol Total (mg/dL)	52 ± 5	60 ± 5	78 ± 5 ^{*#}
HDL (mg/dL)	20 ± 1	20 ± 2	25 ± 3
LDL (mg/dL)	24 ± 2	32 ± 1 ^{**}	40 ± 1 ^{**#}
VLDL (mg/dL)	5 ± 0.6	10 ± 0.5 ^{**}	32 ± 3 ^{***#}
Triglicerídeos (mg/dL)	25 ± 3	50 ± 2 ^{**}	35 ± 4 ^{*#}
Glicose (mg/dL)	141 ± 13	208 ± 7 ^{**}	108 ± 6 ^{*#}
Insulina Basal (μUI/mL)	1.4 ± 0.3	3.3 ± 0.5 ^{**}	3.1 ± 0.2 ^{**}
Cortisol (μg/dL)	4.0 ± 0.3	3.9 ± 0.3	7.0 ± 0.7 ^{***#}
Acido Úrico (mg/dL)	0.96 ± 0.2	2.0 ± 0.2 ^{**}	0.81 ± 0.3 [#]
Lactato Dehydrogenase (U/L)	254 ± 32	503 ± 88 [*]	275 ± 24 [#]
Lipase Lipoprotéica (mg/L)	10 ± 0.7	19 ± 1.7 ^{**}	21 ± 1.2 ^{**}
CK-MB(U/L)	157 ± 10	535 ± 85 ^{**}	184 ± 23 [#]
Proteína C-Reativa (mg/L)	1.0 ± 0.4	5.3 ± 0.7 ^{**}	3.0 ± 0.1 ^{**#}
Proteínas Totais (g/dL)	5.5 ± 0.1	8.1 ± 0.3 ^{**}	6.3 ± 0.2 ^{*#}
Albumina (g/dL)	3.1 ± 0.2	6.9 ± 0.1 ^{**}	7.0 ± 0.7 [#]
HbC1a (%)	3.5 ± 0.4	5.9 ± 0.3 ^{**}	4.1 ± 0.7 [#]
HOMA-IR	1.9 ± 0.4	4.7 ± 0.7 ^{**}	3.9 ± 1.1 ^{**}

TUSBI: Terapia ultra-sônica de baixa intensidade; **HDL:** Lipoproteína de alta densidade; **LDL:** Lipoproteína de baixa densidade; **VLDL:** Lipoproteína de muito-baixa densidade; **CK-MB:** Enzima creatino-quinase isoforma cardíaca; **Hbca1:** Hemoglobina glicada; **HOMA-IR:** Modelo de avaliação da homeostase, para detecção de resistência insulínica. Valores expressos em média ± EPM (erro padrão da média). Análise de variâncias (ANOVA) 1 via e teste de *Tukey* para múltiplas comparações. Diferenças estabelecidas em * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. SHAM e # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs. TUSBI.

Verificamos uma importante hiperlipemia (i.e. aumento no plasma do colesterol total, LDL, VLDL, TG) compatível com quadro de dislipidemia, além de elevações do cortisol plasmático após suspensão do tratamento com LCD no TAB glúteo-femoral. Verificou-se também, alterações significativas de alguns dos bio-marcadores para o risco cardiovascular, i.e. aumento do ácido úrico e das enzimas lactato-desidrogenase e creatino-quinase-MB (isoforma-cardíaca), além da proteína C reativa e da hemoglobina glicada, conforme apresentado na tabela-1.

Por outro lado, na avaliação da resposta inflamatória sistêmica entre as fêmeas experimentais, os valores do leucograma mostraram importante elevação, embora somente tenhamos detectado alterações significativas nos neutrófilos e linfócitos, conforme demonstrado na tabela-2.

TABELA-2: Valores da resposta inflamatória sistêmica (leucograma) de ratas Wistar saudáveis, em função do tratamento com LCD.

<i>Parâmetros</i>	SHAM	TUSBI	WASHOUT
Leucócitos Totais (U/mm ³)	2.6 ± 0.2	3.6 ± 0.2*	2.5 ± 0.2 [#]
Neutrófilos (%)	37.8 ± 1.8	59.3 ± 1.4**	48.2 ± 1.6* [#]
Linfócitos (%)	57.7 ± 1.8	38.6 ± 2.3**	45.5 ± 2.9*
Monócitos (%)	0.85 ± 0.2	0.11 ± 0.05*	0.46 ± 0.14
Eosinófilos (%)	5.1 ± 0.5	3.8 ± 0.7	7.7 ± 1.8
Bastonetes (%)	0.06 ± 0.03	0.03 ± 0.02	0.01 ± 0.01

Valores expressos em média ± EPM (erro padrão da média). Análise de variâncias ANOVA 1 via e teste de *Tukey* para múltiplas comparações. Para as diferenças foram estabelecidos * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. SHAM, e # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs. TUSBI.

4.4. Hemodinâmica Cardiovascular e Função Coronariana.

Na hemodinâmica cardiovascular, conforme demonstrado na Figura 7, foram determinadas alterações significativas no grupo TUSBI, pois, observou-se aumento da pressão arterial diastólica e média sem alterações da pressão sistólica, além de importante redução da frequência cardíaca. No entanto, após suspensão do tratamento com LCD no grupo WASHOUT, os valores de pressóricos e de frequência cardíaca retornaram aos valores basais do SHAM.

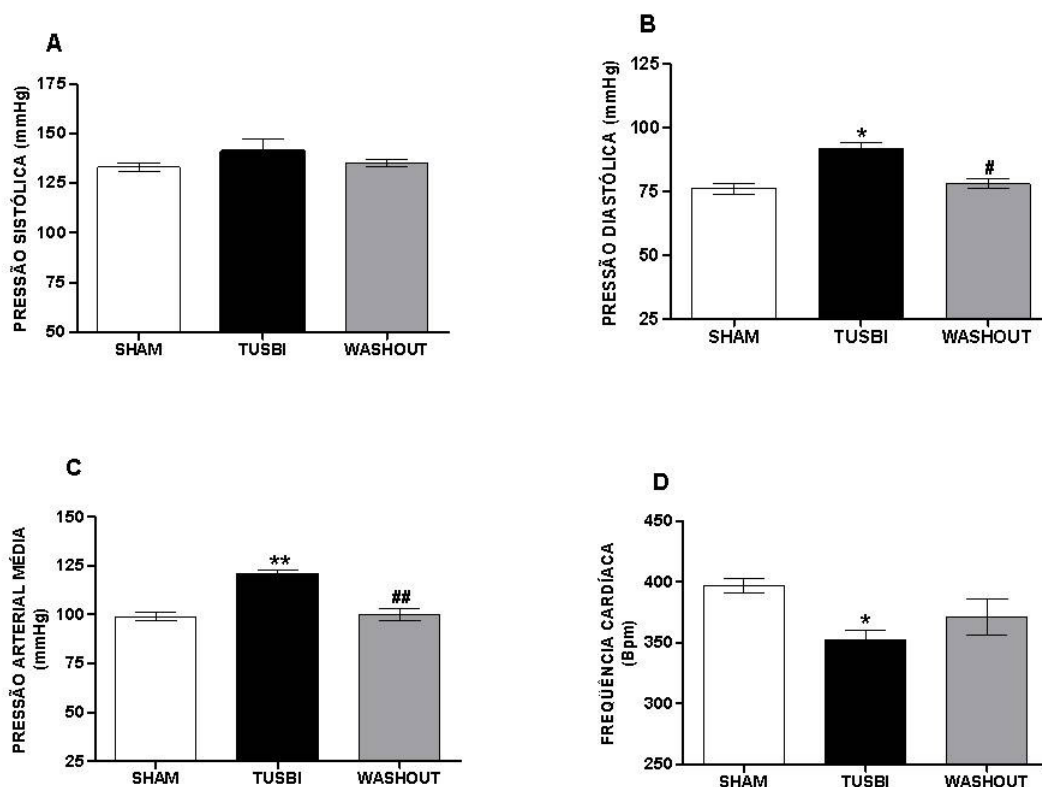


Figura-7. – Avaliação dos parâmetros hemodinâmicos: pressão arterial sistólica (A), diastólica (B), pressão artéria média (C) e frequência cardíaca (D), após lipoclasia dermossônica de tecido adiposo subcutâneo de ratas saudáveis. (□) SHAM, (■) TUSBI, terapia ultra-sônica de baixa intensidade 3-MHZ, (▒) WASHOUT. Os Valores estão expressos em média \pm EPM. Análise de variâncias (ANOVA) 1 via e teste de *Tukey* com diferenças estabelecidas em * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. SHAM e # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs. TUSBI (n=10).

Na avaliação da função coronariana em estudos em coração isolado, observou-se significativa redução da resposta vasodilatadora induzida pela adenosina no grupo TUSBI, que foi mantida em menor valor no grupo WASHOUT, assim como, verificou-se importante bradicardia na frequência de marcapasso, i.e. a frequência intrínseca do coração (células do nodo sinusal).

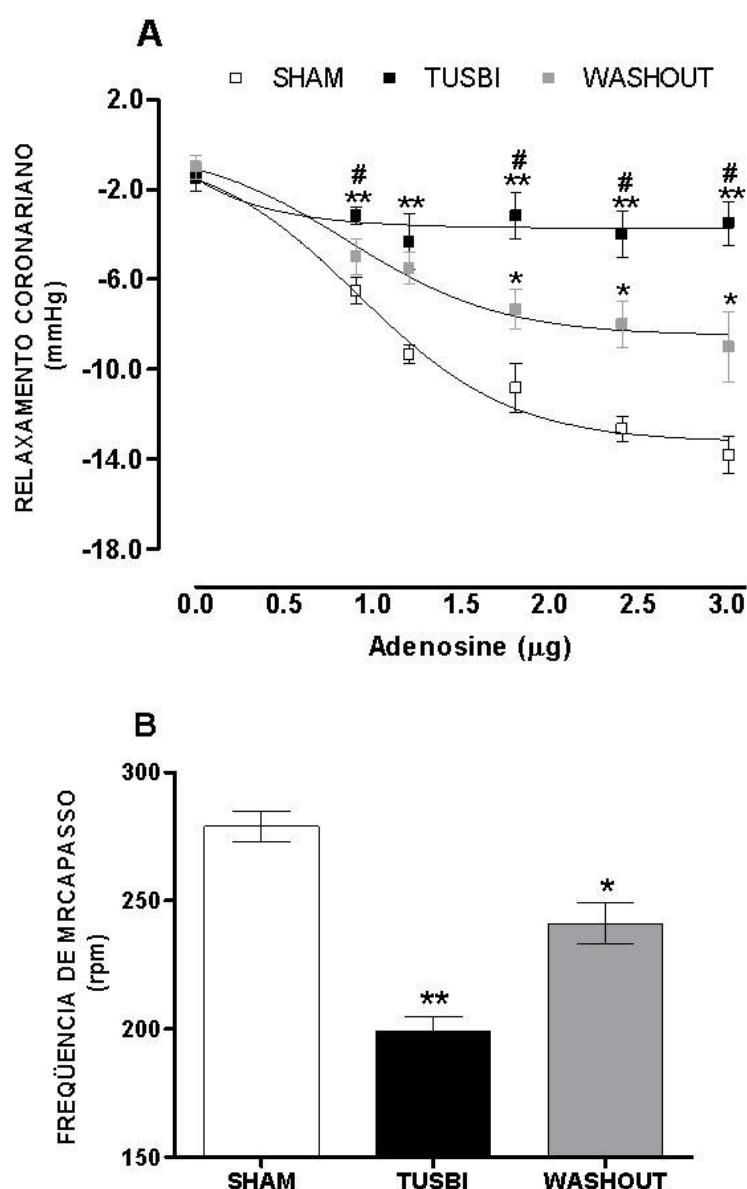


Figura-8. – Curva dose-resposta de adenosina (**A**) e frequência de marcapasso (**B**), após lipoclasia dermossônica de tecido adiposo subcutâneo de ratas saudáveis. (□) **SHAM**, (■) **TUSBI**, terapia ultra-sônica de baixa intensidade 3-MHZ, (▒) **WASHOUT**, suspensão do tratamento. Os Valores estão expressos em média \pm EPM. Análise de variâncias (ANOVA) 1 e 2 vias e teste de *Tukey* com diferenças estabelecidas em * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. SHAM e # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs. WASHOUT (n=10).

5. DISCUSSÃO

Neste estudo, foram investigados os efeitos crônicos da lipoclasia dermossônica (LCD) do tecido adiposo subcutâneo, na composição corporal, no metabolismo energético e na redistribuição da gordura corporal de ratas saudáveis, e suas implicações para o sistema cardiometabólico de ratas saudáveis. Nossos resultados demonstraram que a LCD em TABsc por 10 dias consecutivos, altera a composição corporal, induz maciça lipólise nos depósitos de gordura, produz dislipidemia com RI, hipertensão arterial com disfunção coronariana em ratas wistar, fatores que agrupados em um só indivíduo caracteriza síndrome metabólica.

Conforme observado na clínica (Guirro e Guirro, 2004; Rawlling, 2006;), também em nossos resultados, a LCD promoveu importante lipólise com significativa redução no peso corporal dos ratos a partir da 5ª aplicação, além disso, houve uma manutenção desses efeitos de redução do peso até o final do tratamento com LCD, no 10º dia. Associado a esta importante perda de peso corporal, também se observou redução gradativa da ingestão de comida, a partir do 5º dia de LCD, que ao 10º dia, foi significativamente diferente quando comparado ao grupo SHAM. Assim como o grupo que parou de receber o tratamento com LCD (WASHOUT), apresentou uma maior ingestão de comida a partir do 5º dia de suspensão do tratamento, mantendo esse aumento até o 10º dia de suspensão da LCD. Esta perda de peso corporal e redução da ingestão de comida, observadas nas fêmeas que receberam LCD, parecem estar relacionadas com o aumento do metabolismo energético local e sistêmico, bem como presumível secreção, liberação e ação de inúmeras adipocinas estimuladas pela LCD no TAB subcutâneo. Uma vez que, vários relatos na literatura (Bajaj et al. 2002; Wajchenberg, 2000; Lewis et al. 2002)

suportam que neste depósito do TAB (coxim subcutâneo) em fêmeas, há uma maior capacidade de expressão, síntese e secreção de leptina e outras adipocinas pró-inflamatórias, tais como a IL-6 e o TNF- α (Van Harmelen et al 1998; Coppack, 2001; Kershew et al 2004; Ribeiro et al 2007). Propõem também, que níveis elevados de adipocinas circulantes, principalmente as pró-inflamatórias, além de acarretarem repercussões vasculares importantes, modulam várias ações de hormônios anorexígenos no núcleo hipotalâmico arqueado. O que pode ter acarretado a redução da ingestão alimentar e perda do peso corporal observada nas ratas tratadas com LCD. Visto que, no 5º dia após a suspensão da LCD houve aumento da ingestão de comida, se mantendo crescente até o 10º dia de WASHOUT. Caracterizando importante papel do TAB periférico na homeostasia e na sinalização do metabolismo energético, por meio da modulação dos níveis de circulantes de adipocinas (**Fig. 9**) (Bajaj et al. 2002; Lewis et al. 2002; Trayhurn et al 2005).

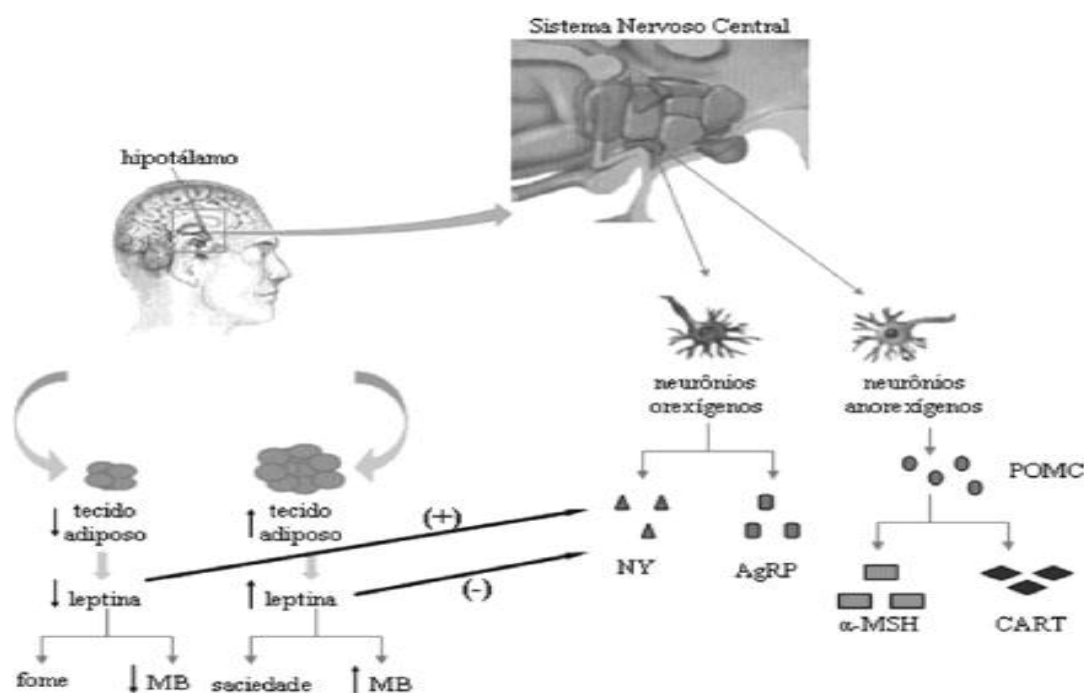


Figura-9. – Esquema das vias de sinalização da leptina e citocinas pró-inflamatórias com ações sobre o apetite e metabolismo energético. **MB**= Metabolismo basal; **NY**= Neuropeptídeo Y; **AgRP**= Peptídeo relacionado ao *Agouti*; **POMC**= Proteína derivada da propriomelanocortina; **α-MSH**= Peptídeos da melanocortina; **CART**= peptídeo derivado da cocaína e anfetamina; (-)= desativação; (+)= ativação. Ribeiro et al 2007.



Adicionalmente as alterações do peso corporal e ingestão de comida, houve também, significativa diminuição do índice de obesidade (Índice de Lee) nas ratas tratadas com LCD, assim como redução do IMC e da resistência corporal, estimadas pela bioimpedância. Efeitos provavelmente decorridos pela redução da gordura subcutânea retroperitoneal e inguinal bilateral. Um outro fator preponderante na redução do peso corporal, foi à relativa perda de água corporal, observada nas fêmeas WASHOUT, compatíveis com os achados de poliúria, também vistos neste grupo de ratas (Gonçalves et al 2005 e 2008).

Na lipectomia, as reduções dos coxins retroperitoneal, parametrial e inguinal bilateral sem alteração do coxim perirenal em ratas saudáveis, foi um achado muito interessante considerando as distâncias entre os depósitos de gordura e as áreas estimuladas com US. Além disso, utilizou-se alta frequência e baixo nível de irradiação ultra-sônica, não permitindo o efeito de espalhamento da onda mecânica, o que sugere importantes efeitos sono-químicos da TUSBI no TAB.

Analisando atenciosamente os efeitos lipolíticos da LCD no TAB subcutâneo (Miwa et al 2002; Kogure et al 2002; Siems et al 2005; Gonçalves 2005 e 2008), e comparando-os com achados na literatura, incluindo os de alta frequência (3 e 5-MHz), acredita-se que as reduções dos coxins RET, PRM e ING estariam relacionadas às ações endócrinas, parácrinas e até mesmo autócrinas de adipocinas liberadas pelo TAB subcutâneo. Ou ainda, os eventos de maciça lipólise com redução dos coxins tenham ocorrido, pelo aumento da atividade das enzimas (lipases lipoprotéica-LPL e hormônio-sensível-LHS) estimuladas pela noradrenalina nas terminações simpáticas no TAB durante a estimulação com LCD. Evidências que corroboram com os relatos da literatura (Lewis et al 2002; Barroso et al 2002; Tiraby



et al 2003), assim como os valores elevados de concentração da LPL no plasma obtidos neste estudo, os quais indicam importantes ações sono-químicas diretas e indiretas do ultra-som de baixa intensidade nos diferentes compartimentos e ou depósitos do TA.

Inúmeros estudos mostram que o comportamento metabólico da gordura intra-abdominal difere do tecido adiposo subcutâneo periférico ou glúteo-femoral, sendo o primeiro mais sujeito à lipólise, expressando maior número de receptores de glico-corticóides e mais sensível às catecolaminas, apresentando menor expressão de IRS-1 (Kershew et al 2004; Hardig et al 2006; Shi et al 2007). Por outro lado, outros estudos mostram que as concentrações séricas de leptina se associam particularmente à quantidade de gordura subcutânea abdominal e inguinal, o que poderia explicar, em parte, maiores níveis deste hormônio no sexo feminino (Sivitz et al 1997; Barroso et al 2002; Langin et al 2006).

Integradas aos efeitos lipolíticos com redução dos coxins produzidas pela LCD, no metabolismo lipoprotéico as implicações foram hipertrigliceridemia, elevação do VLDL e redução do HDL plasmático, caracterizando uma importante lipemia, assim como aumento do risco para dislipidemia, provavelmente devido às lipólises diárias com maciça mobilização da gordura corporal nos coxins RET, PMT e ING bilateral, assim como, o aumento da LPL plasmática pela elevação de triglicerídeos apresentados na tabela-1. Ao relacionarmos as alterações bioquímicas plasmáticas observadas nas fêmeas experimentais com a redução dos coxins RET, PMT e ING induzido pelo tratamento com LCD; identificou-se um preocupante efeito de redistribuição da gordura corporal via circulação sanguínea, uma vez que, inúmeros estudos demonstram que constantes elevações nos níveis lipídicos plasmáticos



(lipemia pós-prandial) é o principal fator de risco para doença dislipidêmica e o desenvolvimento da SM em indivíduos sobrepesos e obesos (Lewis et al 2002; Tripathy et al 2003)

Em revisões de Wajcenberg (2000) e Baroso et al (2002), a hiperlipemia pós-prandial caracterizada pela elevação dos níveis de triglicerídeos após uma refeição, vem ganhando importância como fator de risco cardiovascular, estando diretamente relacionada à presença de adiposidade visceral aumentada, e à RI. Pacientes com maior hiperlipemia pós-prandial apresentam menor vasodilatação dependente do endotélio, maior quantidade de radicais livres, maior oxidação lipídica e suas partículas de LDL colesterol são menores e mais densas, portanto, mais aterogênicas (Tripathy et al 2003). Després et al (2000) afirmaram que a adiposidade visceral é o principal determinante da resposta lipêmica pós-prandial, sendo que diversos fatores, como a atividade da lipase lipoprotéica e ação de citocinas secretadas pela gordura visceral, parecem modular o metabolismo pós-prandial dos triglicerídeos.

Uma corrente de investigadores acredita que os ácidos graxos livres provenientes da lipólise na gordura corporal, liberados em grande quantidade na circulação portal, tenham papel definitivo na gênese da resistência tecidual à ação insulínica, tanto a nível hepático como periférico, sendo que, recentemente, Sarafidis et al (2007) e outros autores, reportaram evidências moleculares favoráveis a esta hipótese (Carvalho et al 2000; Garg et al 2006; Dandona et al 2007).

Estudos de Sarafidis et al (2007) e outros autores descrevem que a manutenção de elevados níveis de AGL não-esterificados circulantes, produzem efeitos deletérios na bioquímica energética e no metabolismo celular. Relatam ainda, que o fluxo aumentado de AGL oriundos do tecido adiposo para tecidos não-



adiposos, de um modo geral, produz uma piora na sinalização da via do substrato do receptor de insulina (IRS-1) (Barroso et al 2002;. Sugerindo que a RI observada nas ratas tratadas com LCD, tenha ocorrido devido aos efeitos lipotóxicos dos AGL no IRS-1, que implica em disfunções na cascata de ativação deste receptor. Outras investigações mostram que a inibição e/ou perda na sensibilidade do IRS-1 pode facilitar o acúmulo de gordura tecidual pela redução da atividade lipolítica da insulina, levando a reesterificação dos AGL nos músculos e nos demais tecidos (Rasouli et al 2007).

Apesar do papel central da gordura visceral na RI, deve-se ressaltar a participação do tecido adiposo depositado em outros locais. O depósito ectópico de adipócitos vem ganhando destaque na fisiopatologia da RI, principalmente o tecido adiposo intramuscular e a deposição de gordura hepática. Estudos recentes demonstram que o conteúdo intramuscular de gordura está diretamente associado à redução na captação periférica de glicose, podendo haver modulação por parte da leptina nestes depósitos ectópicos de gordura (Sivitz et al 1997; Kershew et al 2004). De forma semelhante, Thamer et al (2004) verificaram em um estudo transversal, que o conteúdo lipídico intra-hepático estava intimamente associado à sensibilidade à insulina, sendo que, em indivíduos saudáveis, a gordura visceral se mostrou como o principal fator determinante do depósito de gordura no fígado. Por outro lado, o tecido adiposo subcutâneo inguinal ou glúteo-femoral e abdominal superficial parece exercer função protetora no que se refere à RI, quando não estimulados. Animais submetidos à lipectomia do tecido subcutâneo abdominal desenvolveram síndrome metabólica quando submetidos à dieta hiperlipídica (Ceriello et al 2002). Em mulheres obesas, a remoção cirúrgica de cerca de 20% da



gordura corporal por lipoaspiração do subcutâneo da região abdominal, não alterou o perfil metabólico, tanto de pacientes diabéticas como daquelas com tolerância normal à glicose (Siems et al 2005; Lundgren et al 2004). No entanto, a estimulação do metabolismo nestes compartimentos pela LCD com maciça lipólise e redução da gordura subcutânea local, parece não só reduzir esta função protetora, como ocasionar disfunções no metabolismo de glico-lipoproteico em fêmeas, além de produzir quadro de RI aguda.

A glicemia e a insulinemia apresentou importante elevação nas tratadas com LCD que os valores basais encontrados nas fêmeas SHAM, evidenciando quadro agudo de RI, mais tarde confirmado pelo HOMA-IR. Estudos atuais mostram que a resistência à insulina tem como mais importante contribuinte o excesso de ácidos graxos livres (AGL) circulantes, os quais se originam do tecido adiposo e das lipoproteínas ricas em triglicerídeos (Wajchnberg 2000; Lewis et al 2002; Barroso 2002). Em acordo com as ações anti-lipolítica e de estímulo à lipase lipoprotéica (LPL) da insulina, a resistência a este hormônio é determinante de lipólise e aumento de AGL. No fígado, os AGL aumentam a produção de glicose, TG e VLDL, associando-se redução do colesterol contido na HDL-c e aumento da LDL. No músculo, os AGL reduzem a sensibilidade à insulina, inibindo a captação de glicose insulino-mediada. Dados epidemiológicos demonstrando papel preditivo dos AGL no desenvolvimento do diabetes, suportam os dados fisiopatológicos descritos. Aumento da glicose circulante e liberação de AGL aumentam a secreção de insulina do pâncreas, resultando em hiperinsulinemia, a qual pode levar à retenção de sódio e aumento da atividade simpática (Matveeva, 2005), contribuintes da hipertensão, corroborando com nossos achados neste estudo.



Associado a RI (HOMA-IR) apresentada na tabela-1, também houve alterações significativas do estado pró-inflamatório sistêmico, i.e. elevação das células inflamatórias (neutrófilos) no plasma, nas fêmeas tratadas com LCD com sustentação este estado pró-inflamatório após 10 dias WASHOUT (tabela-2). O que caracterizou um importante fator para implicação das alterações cardiometabólicas encontradas neste estudo, pois, inúmeros estudos apresentam mecanismos fisiopatológicos que conectam as alterações do metabolismo energético (glicolipoprotéico), estresse oxidativo e RI com a hipertensão arterial (Shanmugam et al 2003; Matveeva, 2005; Carvalho et al 2006; Dandona 2007).

Houve ainda, uma expressiva retenção de sódio nas fêmeas do grupo TUSBI, acompanhada de significativa poliúria nas WASHOUT. Dados clínicos e experimentais sugerem que a resistência insulínica e a hiperinsulinemia podem também causar hipertensão arterial por alterar o transporte iônico. Haja vista, estudos de Rocchini (2000 e 2002) mostrarem que a insulina altera o transporte de sódio e cálcio, por efeitos diretos na troca sódio-hidrogênio e na modulação da Na-K-ATPase e também indiretos no co-transporte sódio-potássio e contra-transporte sódio-lítio, embora hajam controvérsias no que se refere aos mecanismos moleculares deste efeito. Vários estudos têm mostrado claramente a associação causal da resistência insulínica (IR) e hiperinsulinemia compensatória, com a elevação da pressão arterial (PA) através de mecanismos como: retenção de sódio (Matveeva, 2005), estimulação do sistema nervoso simpático (Lefrandt e al 2000), promoção do crescimento de células vasculares e prejuízo da vasodilatação mediada por insulina, durante o estado de resistência-insulínica e estado pré-inflamatório (Carvalho et al 2006; Sarafidis et al 2007;).

Segundo Sarafidis et al (2007) e frente aos nossos achados, sugerimos alguns dos prováveis mecanismos fisiopatológicos que estão envolvidos e fazem uma integração coerente entre hiperlipemia (dislipidemia), hiperglicemia, RI e hipertensão: **(1)** redução os efeitos vasodilatadores e ou aumento a resposta pressora por ativação dos receptores α_1 -adrenérgicos vasculares (Sarafidis et al 2007); **(2)** redução da produção de NO nas células endoteliais e inibição da vasodilatação dependente do endotélio, que no leito coronariano de ratas é modulada pelo estrogênio (Moyses et al 2001; Santos et al 2004); **(3)** inibição da via 3-fosfatoinositol-kinase (PI3-K) e inibição na vasodilatação mediada por insulina pela maior produção de endotelina; **(4)** aumento do estresse oxidativo pela peroxidação lipídica e biodisponibilidade de AGL competindo com a via glicolítica (Matveeva, 2005); **(5)** *Up-regulation* do sistema renina-angiotensina local, induzido pelo aumento da atividade adrenérgica do tecido adiposo via receptores β -adrenérgico, e sistêmico pela produção de espécies reativas de oxigênio (ERRO) via mediadores sensíveis de estresse (Greene et al 2001; Leiter et al 2005); **(6)** ações tróficas diretas em células do músculo liso vascular (CMLV) via proteína kinase-C (PKC) ativadas pela LCD (Barroso et al 2002; e **(7)** inibição da Na^+/K^+ ATPases em CMLV pela ação insulínica (**Fig. 10**) (Barroso et al 2002; Sarafidis et al 2007).

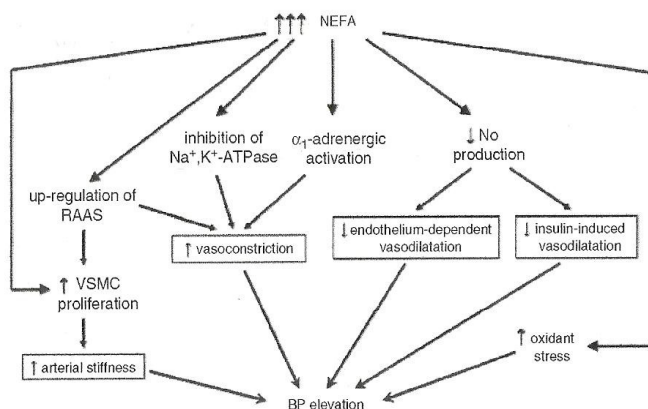


Figura-10. – Esquema de possíveis vias para conexão entre elevação plasmática de AGNEs/NEFAs com aumento da pressão sanguínea. **NEFAs/AGNEs**= ácidos graxos não-esterificados; **RAAS**= sistema renina-angiotensina-aldosterona; **VSMC**= celular do músculo liso vascular; **NO**= óxido nítrico.

Sarafidis et al 2007.



Além das alterações pressóricas observadas, houve também uma bradicardia “*in vivo*” nas fêmeas após LCD, sugerindo uma redução da atividade do barorreflexo. Pois, segundo Van Gurp et al (2005) e Hong et al (2007) a manutenção da glicemia e lipemia em níveis plasmáticos elevados, interfere expressivamente na sensibilidade da ativação do barorreflexo por influências diretas e indiretas da hiperinsulinemia compensatória, e das ações de espécies reativas de oxigênio (aumento do estresse oxidativo) na dessensibilização os baroreceptores. Por outro lado, outros importantes estudos em diabetes e obesidade, não identificaram essa redução na sensibilidade, ou qualquer outra alteração da ativação do barorreflexo frente à hiperglicemia (Watkins et al 2000; Huber et al 2007) indivíduos diabéticos ou não-diabéticos.

Nos estudos da função coronariana, verificou-se surpreendente redução da frequência de marcapasso e da vasodilatação coronariana induzida por adenosina nas fêmeas TUSBI e WASHOUT. Demonstrando que a LCD no TAB subcutâneo por 10 dias consecutivos, não apenas ocasiona efeitos agudos pela lipemia com elevação de AGL circulantes, como também, produz prejuízos mais extensos na reatividade coronariana pela exposição crônica á hiperlipemia e hiperglicemia. No entanto, após a suspensão do tratamento esses efeitos deletérios da hiperlipemia e hiperglicemia na vasodilatação por adenosina atenuaram significativamente, mas o relaxamento coronariano não retornou aos níveis basais. Evidenciando um prejuízo no relaxamento do tônus vascular por adenosina após LCD em fêmeas, compatível com insuficiência coronariana aguda. Efeitos similares foram encontrados por Chinen et al (2005) em estudos de reatividade vascular de vaso de condutância, no qual demonstrou que a disfunção endotelial induzida por AGL em anéis de aorta de ratos



Zucker, reduziu o relaxamento dose-dependente de acetilcolina, devido uma superprodução de EROs.



6. CONCLUSÃO

Diante destes achados, podemos afirmar que a LCD demonstra grandes potencialidades como modulador exógeno do metabolismo no TAB, pois interfere efetivamente na redução do peso corporal, ingestão de comida e na distribuição de gordura corporal. Produzindo importante lipólise com mobilização de gordura dos depósitos (coxins) abdominal (retroperitoneal e parametrial) e subcutâneo periférico (inguinal bilateral), sem alterar a gordura do coxim perirenal, demonstrando assim alto potencial para o tratamento da obesidade ginóide.

Por outro lado, também provoca alterações significativas do perfil lipoprotéico e enzimático plasmático, implicando importante padrão dislipidêmico e dismetabólico, o que induz a instalação do quadro agudo de RI. Alterando as sinalizações para funções cardiometabólicas essenciais, além de produzir alterações hemodinâmicas e vasculares significativas, compatíveis com hipertensão com disfunção coronariana.

Todas estas evidências e fatores associados convertem para um novo modelo de síndrome metabólica em ratas, induzido por maciça lipólise ocasionada por lipoclasia dermossônica. Contudo, mais investigações deverão ser conduzidas para melhor caracterização das vias, mecanismos celulares e sinalizadores moleculares ativados pela LCD no diferentes depósitos de TAB a fim de compreender as inter-relações entre os componentes da síndrome metabólica e sua gênese.



7. REFERÊNCIAS

- Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. part i: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. **Diabet Med** 1998;15:539-53.
- Andrew R, Westerbacka J, Wahren J, Yki-Jarvineh H, Wajer BR. The contribution of visceral adipose tissue to splanchnic cortisol production in healthy humans. **Diabetes** 2005; 54 (5):1364-1370.
- Araújo M, Baptista-Silva JCC, Gomes PO, Campos HO, Novo NF, Juliano Y. Efeitos do ultra-som de baixa intensidade na veia auricular de coelhos. **Acta Cir Bras** 2003; 18 (1): 25-31.
- Bajaj M, Berria R, Pratipanawatr T, Kashyap S, Pratipanawatr W, Belfort R, Cusi K, Mandarino L, DeFronzo RA. Free fatty acid-induced peripheral insulin resistance augments splanchnic glucose uptake in healthy humans. **Am J Physiol Endocrinol Metab** 2002; 283 (2):E346-352.
- Baker KG, Robertson VJ, Duck FA. A review of therapeutic ultrasound: biophysical effects. **Phys Ther** 2001; 81:1351-1358.
- Barroso SG, Abreu VG, Franchischetti EA. A Participação do Tecido Adiposo Visceral na Gênese da Hipertensão e Doença Cardiovascular Aterogênica. Um conceito Emergente. **Arq Bras Cardiol** 2002; 78: 618-30.
- Bellocchio L, Cervino C, Pasquali R, Pagotto U. The endocannabinoid system and energy metabolism. **J Neuroendocrinol** 2008; 20 (6):850-857.
- Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. **Circ Res** 2005; 96 (9): 939-949.



- Billington CJ, Levine AS. Shedding new light on obesity: appetite regulation. **Curr Biol** 1996; 6: 920-3.
- Cannow B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: Function and physiological significance. **Physiol Rev** 2004; 84:272–359.
- Carvalho MHC, Colaço AL, Fortes ZB. Cytokines, endothelial dysfunction, and insulin resistance. **Arq Bras Endocrinol Metabol** 2006; 50:304-312.
- Charriere G, Cousim B, Arnaud E, et al, Pre-adipocyte conversion to macrophage. Evidence of plasticity. **J Biol Chem** 2003; 278 (11): 9850-9855.
- Chinen I, Shimabukuro M, Yamakawa K, et al. Vascular lipotoxicity: endothelial dysfunction via fatty-acid-induced reactive oxygen species overproduction in obese Zucker diabetic fatty rats. **Endocrinology** 2007; (1): 160-165.
- Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, et al. Serum immuno reactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. **N Engl J Med** 1996; 334: 292-295.
- Costa JV, Duarte JS. Tecido adiposo e adipocinas. **Acta Med Port** 2006; 19: 251-256.
- Després JP, Pascot A, Lemieux I. Risk factors associated with obesity: a metabolic perspective. **Ann Endocrinol** 2000; 61 (Suppl 6):31-38.
- Dyson M. Non-thermal cellular effects of ultrasound. **Br J Cancer**. 1982; 45:165-171.
- Dyson M, Suckling J. Biological Effects of Therapeutic **Ultrasound Reumatol Rehab**. 2001; 12:209-213.



Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). **JAMA** 2001; 285:2486-97.

Fagundes VGA, Barroso SG, Francischetti EA. Hipertensão e Obesidade. **Hipertensão** 1998; 1: 61-72.

Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. **J Allergy Clin Immunol** 2005; 115 (5): 911-919.

Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults. Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. **JAMA** 2002; 287:356-9.

Gaede P, Vedel P, Larsen N, Jensen GWV, Parving H-H, Pedersen O. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. **N Engl J Med** 2003; 348:383-93.

Garg R, Chaudhuri A, Munschauer F, Dandona P. Hyperglycemia, insulin, and acute ischemic stroke – A mechanistic justification for a trial of insulin infusion therapy. **Stroke** 2006; 37:267-273.

Greene EL, Lu G, Zhang D, Egan BM. Signaling events mediating the additive effects of oleic acid and angiotensin II on vascular smooth muscle cell migration. **Hypertension** 2001; 37: 308-312.

Gonçalves WLS, Cirqueira JP, Soares LS et al. Utilização da terapia ultra-sônica de baixa intensidade na redução da lipodistrofia ginecóide: uma terapia segura ou risco cardiovascular transitório? Um estudo pré-clínico. **An Bras Dermatol** 2008; 80 (suppl.3):S352-S359.



- Gonçalves WLS, Graceli JB, Santos RL et. al. Ultrasound lipoclasia on subcutaneous adipose tissue to produce acute hyperglycemia and enhance acute inflammatory response in healthy female rats. ***Dermatol Surgery*** 2008; 00 (00):00 [in press].
- Gonçalves WLS, Graceli, Nogueira BV et al. Cardiovascular effects produced by application of low-intensity ultrasound energy to the precordial area of rats – preliminary studies. ***Clin Exp Phamacol Physiol*** 2008; 00 (00):00 [in press].
- Guirro, RRJ, Cancelieri AS, Sant’ana IL. Avaliação dos meios intermediários utilizados na aplicação do ultra-som terapêutico. ***Rev. Bras. Fisioter*** 2001; 5, (2):49-52 .
- Guirro EC, Guirro RRJ. In: Fisioterapia Dermato-funcional. Fundamentos-Recursos-Patologia, 3ª ed. São Paulo ***Ed. Manole***; 2002.
- Gregoire FM. Adipocyte differentiation: from fibroblast to endocrine cell. ***Exp Biol Med (Maywood)*** 2001; 226 (11): 997-1002.
- Hardig BM, Persson HW, Olsson SB. Direct action on the molecule is one of several mechanisms by which ultrasound enhance the fibrinolytic effects of reteplase. ***Blood Coagul Fibrinolysis*** 2006; 17 (2):105-112.
- Hermsdorff HHM, Monteiro JBR. Gordura visceral, subcutânea ou intramuscular: onde está o problema? ***Arq Bras Endocrinol Metabol*** 2004; 48 (6):803-811.
- Hong LZ and Hsieh PS. Hyperrinsulinemia instead of insulin resistance induces baroreflex dysfunction in chronic insulin-infused rats. ***Am J Hypertens*** 2007; 20 (4): 451-458.
- Huber DA, do Carmo JM, Castania JA, Frazan Jr R, Salgado HC. Does acute hyperglycemia alter rat aortic depressor nerve function? ***Braz J Med Biol Res*** 2007; 40:1567-1576.



- Inui A. Feeding and body-weight regulation by hypothalamic neuropeptides mediation of the actions of leptin. ***Trends in Neurosciences*** 1999; 22: 62-67.
- Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsén B, Lahti K, Nissén M, et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the Metabolic Syndrome. *Diabetes Care* 2001; 24: 683-9.
- Jequier E: Leptin signaling, adiposity, and energy balance. ***Ann N Y Acad Sci*** 2002; 967:379-388.
- Jesudason D, Wittert G. Endocannabinoid system in food intake and metabolic regulation. ***Curr Opin Lipidol*** 2008; 19 (4): 344-348.
- Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. ***J Clin Endocrinol Metab.*** 2004; 89 (6):2548-2556.
- Kitchen SS, Partridge CJ. A review of therapeutic ultrasound. ***Physiotherapy (London)*** 1990; 76 (10): 593-600.
- Laaksonen DE, Lakka H-M, Niskanen LK, Kaplan GA, Salonen JT, Lakka TA. Metabolic syndrome and development of diabetes mellitus: Application and validation of recently suggested definitions of the metabolic syndrome in a prospective cohort study. ***Am J Epidemiol*** 2002; 156: 1070-7.
- Lagin D. Control of fatty acid and glycerol release in adipose tissue lipolysis. ***C R Biologies.*** 2006; 329:598-607.
- Lefrandt JD, Mulder MC, Bosma E, Smit AJ, Hoogenberg K. Inverse relationship between blood glucose and autonomic function in healthy subjects. ***Diabetes Care*** 2000; 23:1862-1864.



- Leiter LA and Lewanczuk RZ. Of the Renin-Angiotensin Sytem and Reactive Oxygen Species – Type 2 Diabetes and Angiotensin II Inhibition. ***Am J Hypertens*** 2005; 18: 121-128.
- Lewis GF, Carpentier A, Adeli K, Giacca A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. ***Endocrine Reviews*** 2002; 23 (2): 201-229.
- Li JK, Chang WH, Lin JC, Ruaan RC, Liu HC, Sun JS. Cytokine release from osteoblasts in response to ultrasound stimulation. ***Biomaterials*** 2003; 24 (13): 2379-2385.
- Lundgren M and Eriksson JW. No in vitro effects of fatty acids on glucose uptake, lipolysis or insulin signaling in rat adipocytes. ***Horm Metabol Res*** 2004; 36 (4): 203-209.
- Matos AFG, Moreira RO, Guedes EP. Aspectos neuroendócrinos da síndrome metabólica. ***Arq Bras Endocrinol Metab*** 2003; 47, (4): 410-420.
- McDiarmid T, Burns PN. Clinical aplications of therapeutic ultrasound. *Physiotherapy, (London)* 1987; 73, (4): 155-162.
- Morrison SF. Central pathways controlling brown adipose thermogenesis. ***News Physiol Sci*** 2004; 19: 67–74.
- Moysés MR, Barker LA, Cabral AM. Sex hormone modulation serotonin-induced coronaru vasodilation in isolated heart. ***Braz J Med Biol Res*** 2001; 34: 949-958.
- Nedelmann M, Eicke BM, Lierke EG, Heimann A, Kempiski O, Hopf HC. Low-frequency ultrasound induces nonenzymatic thrombolysis in vitro. ***J Ultrasound Med*** 2002; 21(6):649-656.



- Noble JG, Lee V, Griffith-Noble F. Therapeutic ultrasound: the effects upon cutaneous blood flow in humans. ***Ultrasound Med Biol*** 2007; 33 (2):279-285.
- O'Brian Jr, WD. Ultrasound–biophysics mechanisms. ***Prog Biophys Mol Biol*** 2007; 93:212–255.
- Pi-Sunyer FX. Pathophysiology and long-term management of the metabolic syndrome. ***Obes Res*** 2004; 12 : 174S-180S.
- Prins JB. Adipose tissue as an endocrine organ. ***Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*** 2002; 16 (4): 639-651.
- Rasouli N, Molavi B, Elbein SC, Kern PA. Ectopic fat accumulation and metabolic syndrome. ***Diabetes Obes Metab.*** 2007; 9 (1):1-10.
- Rawlings AV. Cellulite and its treatments. ***Intern J Cosmet Science*** 2006; 28:175-190.
- Ribeiro SML, Santos ZA, Silva, RJ, *et al.* Leptina: aspectos sobre o balanço energético, exercício físico e amenorréia do esforço. ***Arq Bras Endocrinol Metab*** 2007; 51, (1):11-24.
- Ribeiro-Filho FF, Mariosa LS, Fereira SR. G. et al. Gordura visceral e síndrome metabólica: mais que uma simples associação. ***Arq Bras Endocrinol Metab*** 2006; 50 (2):230-238.
- Rocchini AP. Obesity hypertension, salt sensitivity and insulin resistance. ***Nutr Metab Cardiovasc Dis*** 2000;10 (5):287-294.
- Rocchini AP. Obesity Hypertension. ***Am J Hypertens*** 2002; 15 (Pt 2):50S-52S.
- Rosenthal I, Sostaric JZ, Riesz P. Sonodynamic therapy--a review of the synergistic effects of drugs and ultrasound. ***Ultrason Sonochem*** 2004; 11 (6): 349-363.



- Santos RL, Abreu GR, Bissoli NS, Moysés MR. Endothelial mediators of 17β -estradiol-induced coronary vasodilation in isolated rat heart. ***Braz J Med Biol Res*** 2004; 37: 569-575.
- Sarafidis PA, Bakris GL. Non-esterified fatty acids and blood pressure elevation: a mechanism for hypertension in subjects with obesity/insulin resistance? ***J Hum Hypertension*** 2007; 21:12-19.
- Shanmugam N, Reddy MA, Guha M, Natarajan R. High glucose-induced expression of proinflammatory cytokine and chemokine genes in monocytic cells. ***Diabetes*** 2003; 52:1256–1264.
- Schrauwen P, Hesselink MKC. Oxidative capacity, lipotoxicity, and mitochondrial damage in type 2 diabetes. ***Diabetes***. 2004; 53:1412-1417.
- Shi H, Strader AD, Woods SC, Seeley RJ. The effect of fat removal on glucose tolerance is depot specific in male and female mice. ***Am J Physiol Endocrinol Metab***. 2007; 293 (4):E1012-1020.
- Sivitz WI, Walsh SA, Morgan DA, Thomas MJ, Haynes WG. Effects of leptin on insulin sensitivity in normal rats. ***Endocrinology***. 1997; 138 (8):3395-3401.
- Speed CA. Therapeutic ultrasound in soft tissue lesions. ***Rheumatology*** 2001; 40 (12):1331-1336 .
- Stephens DN. Does the Lee obesity index measure general obesity? ***Physiol Behav*** 1980; 25 (2): 313-315.
- TerHaar GR. Basic physics of therapeutic ultrasound. ***Physiotherapy (London)*** 1987; 73 (3): 110-113.
- TerHaar GR. Therapeutic applications of ultrasound. ***Prog Biophys Mol Biol*** 2007; 93 (1-3): 111-129.



- Trayhurn P; Wood, IS. Signalling role of adipose tissue: adipokines and inflammation in obesity. **Biochem Soc Trans** 2005; 33 (Pt 5): 1078-1081.
- Tripathy D, Mohanty P, Dhindsa S, Syed T, Ghanim H, Aljada A, Dandona P. Elevation of free fatty acids induces inflammation and impairs vascular reactivity in healthy subjects. **Diabetes** 2003; 52:2882–2887.
- Tunstall RJ, Mehan KA, Hargreaves M, Spriet LL, Cameron-Smith D. Fasting activates the gene expression of UCP3 independent of genes necessary for lipid transport and oxidation in skeletal muscle. **Biochem Biophys Res Commun** 2002; 294 (2):301-308.
- Van Gurp PJ, Rongen GA, Lenders JW, Al Nabawy AK, Timmers HJ, Tack CJ. Sustained hyperglycaemia increases muscle blood flow but does not affect sympathetic activity in resting humans. **Eur J Appl Physiol** 2005; 93: 648-654.
- Van Harmelen V, Reynisdottir S, Eriksson P, Thörne A, Hoffstedt J, Lönnqvist F, et al. Leptin secretion from subcutaneous and visceral adipose tissue in women. **Diabetes** 1998; 47: 913-7.
- Vollmer RR, Shott O. Rearing temperature and the sympathetic nervous system regulation of white and brown adipose tissue. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** 2002; 283: R1196–R21197.
- Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. **Endocrine Reviews** 2000; 21 (6):697-738.
- Wang J, Ueda N. Role of the endocannabinoid system in metabolic control. **Curr Opin Nephrol Hypertens** 2008; 17 (1): 1-10.
- Watkins LL, Surwit RS, Grossman P, Sherwood A. Is there a glycemic threshold for impaired autonomic control? **Diabetes Care** 2000; 23:826-830.



Wu J. Shear stress in cells generated by ultrasound. ***Prog Biophys Mol Biol*** 2007; 93: 363–373.

Xu H, Barnes GT, Yang Q, et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. ***J Clin Invest*** 2003; 112 (12):1821-30.

Zarich SW. Mechanism by which hyperglycemia plays a role in the setting of acute cardiovascular illness. ***Rev Cardiovasc Med*** 2006; 7 (Suppl2):S35-S43.

Zimmet P, Boyko EJ, Collier GR, de Courten M. Etiology of the metabolic syndrome: potential role of insulin resistance, leptin resistance, and other players. ***Ann NY Acad Sci*** 1999;18 892:25-44.



8. ANEXOS

Estão relacionados abaixo e disponibilizados anexo os artigos submetidos e/ou publicados até 11/2008 a partir desta TESE DE DOUTORADO:

- 9.1.** Gonçalves WLS, Cirqueira JP, Soares LS et al. **Utilização da terapia ultra-sônica de baixa intensidade na redução da lipodistrofia ginecóide: uma terapia segura ou risco cardiovascular transitório? Um estudo pré-clínico.** *An Bras Dermatol* 2005; 80 (supl.3):S352-S359.
- 9.2.** Gonçalves WLS, Graceli JB, Santos RL et. al. **Ultrasound lipoclasia on subcutaneous adipose tissue to produce acute hyperglycemia and enhance acute inflammatory response in healthy female rats.** *Dermatol Surgery* 2008; 00 (00):00.